

Departement für Pferde
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. med. vet. Anton Fürst, Dipl. ECVS

Musculoskeletal Research Unit (MSRU)
Leiterin: Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Dipl. ECVS

Arbeit unter wissenschaftlicher Betreuung von
Dr. med. vet. Karina Klein, DVM, Ph.D.

**Knochenheilung nach Defektfüllung mit TGplPTH₁₋₃₄ :
Eine radiologische und biomechanische Studie an Schafen**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

Lea Gegner

Tierärztin
aus Mühlacker, Deutschland

genehmigt auf Antrag von

Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Referentin

Prof. Dr. Stephen J. Ferguson, Korreferent

2016

Departement für Pferde
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. med. vet. Anton Fürst, Dipl. ECVS

Musculoskeletal Research Unit (MSRU)
Leiterin: Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Dipl. ECVS

Arbeit unter wissenschaftlicher Betreuung von
Dr. med. vet. Karina Klein, DVM, Ph.D.

**Knochenheilung nach Defektfüllung mit TGplPTH₁₋₃₄ :
Eine radiologische und biomechanische Studie an Schafen**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

Lea Gegner

Tierärztin
aus Mühlacker, Deutschland

genehmigt auf Antrag von

Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Referentin

Prof. Dr. Stephen J. Ferguson, Korreferent

2016

Für meine Eltern Martin und Susanne Gegner

Zusammenfassung	1
Summary	2
1 Einleitung.....	3
1.1 Problemstellung	3
1.2 Ziel der Studie.....	3
2 Literaturübersicht.....	4
2.1 Wahl des Versuchsmodells	4
2.2 Eigenschaften eines ideales Knochenersatzmaterials	6
2.3 Übersicht der Knochenersatzmaterialien	8
2.3.1 Autogene Knochentransplantate	9
2.3.2 Bone Morphogenetic Proteins (BMPs).....	10
2.3.3 Parathormon (PTH).....	12
2.4 Biomechanische Tests.....	14
3 Material und Methoden.....	17
3.1 Aufbau der Studie	17
3.2 Vorbereitung	18
3.3 Operation	19
3.3.1 Operationsvorbereitung	19
3.3.2 Anästhesie	20
3.3.3 Operation	21
3.4 Postoperatives Management	22
3.5 Eingesetztes Knochenersatzmaterial.....	23
3.6 Gewinnung und Aufbereitung der Proben	24
3.7 Untersuchungsmethoden.....	25
3.7.1 Röntgenaufnahmen	25
3.7.2 Biomechanik: Torsions-Tests	26
3.7.3 Mikro Computer Tomographie (μCT).....	28
3.8 Probenauswertung.....	28
3.8.1 Röntgenaufnahmen	28
3.8.2 Biomechanik: Torsions-Tests	29
3.8.3 Mikro Computer Tomographie (μCT).....	29

3.8.4 Statistik	30
<hr/>	
4 Resultate	31
4.1 Operation	31
4.2 Postoperative Phase	31
4.3 Makroskopische Auswertung	32
4.3.1 Beurteilung des Defekts	32
4.3.2 Röntgenaufnahmen.....	32
4.4 Statistische Auswertung der Röntgenaufnahmen.....	37
4.4.1 Kallus-Dichte	37
4.4.2 Kortikale Kallus-Bildung in medio-lateraler (m-l) und anterior-posteriorer (a-p) Projektion	38
4.4.3 Remodellierung der Defektränder	39
4.5 Statistische Auswertung der Biomechanik.....	40
4.6 Statistische Auswertung der Mikro Computer Tomographie (µCT).....	41
4.7 Zusammenfassung aller Resultate	42
<hr/>	
5 Diskussion	43
5.1 Ziel der Studie	43
5.2 Wahl des Versuchsmodells	44
5.3 Probengewinnung und –aufbereitung.....	45
5.4 Makroskopische Auswertung	46
5.4.1 Beurteilung des Defekts	46
5.4.2 Röntgenaufnahmen.....	47
5.5 Statistische Auswertung der Röntgenaufnahmen.....	49
5.5.1 Kallus-Dichte	49
5.5.2 Kortikale Kallus-Bildung in medio-lateraler (m-l) und anterior-posteriorer (a-p) Projektion	50
5.5.3 Remodellierung der Defektränder	51
5.6 Statistische Auswertung der Biomechanik.....	52
5.7 Statistische Auswertung der Mikro Computer Tomographie (µCT).....	55
5.8 Schlussfolgerung und Perspektiven.....	55
<hr/>	
6 Literaturverzeichnis	57

7	Abkürzungsverzeichnis	63
8	Anhang	64
8.1	Tabellen	64
8.1.1	Röntgen	64
8.1.2	Biomechanik: Torsionstests	67
8.1.3	Mikro Computer Tomographie	72
8.2	Abbildungen	75
8.2.1	Fotografien Operation	75
8.2.2	Röntgenbilder	76
8.2.3	Fotografien Schlachtung und Biomechanik	79
8.2.4	Mikro Computer Tomographie	80
Danksagung		
Lebenslauf		

Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurde die Wirkung des chemisch veränderten humanen Parathormons (TGplPTH₁₋₃₄), an eine Fibrinmatrix gekoppelt, auf das Knochenwachstum anhand eines segmentalen Tibia-Defekt-Modells mit einer Grösse von 0.5 cm bei Schafen untersucht. Dabei lag das TGplPTH₁₋₃₄ in zwei Dosierungen (PTH1: 0.4 mg/ml, PTH2: 1 mg/ml) vor. Der Einsatz von Autograft diente als positive Kontrollgruppe. Die Überlebenszeiträume der Tiere betrugen 3, 6 und 12 Monate. Die Stabilisierung erfolgte mit einer Platte (LC-DCP) von medial und einem Castverband. Nach Ablauf der Überlebenszeiträume wurden makroskopische, radiologische und biomechanische Untersuchungen sowie eine Auswertung mittels mikro-CT durchgeführt.

Statistisch lieferte die Gruppe Autograft in Bezug auf die Kallus-Dichte, die kortikale Kallus-Bildung und die Remodellierung der Defektränder zu den frühen Zeitpunkten bessere Werte, jedoch lag 9 und 12 Monate postoperativ kein signifikanter Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen vor. Dabei zeigte die Gruppe PTH2 bessere Ergebnisse als die Gruppe PTH1. Durch den Ausschluss makroskopisch instabiler Knochen wurden alle Tiere mit 3 Monaten Überlebenszeitraum bei der Auswertung der biomechanischen Tests nicht berücksichtigt. Beim Vergleich der Behandlungsgruppen 12 Monate postoperativ ergaben die behandelten Tibiae der Gruppe Autograft die höchsten Werte für Steifigkeit und Torsion, dicht gefolgt von Gruppe PTH2 in Bezug auf die Torsion.

Summary

In this study we investigated the effect of a modified form of the human PTH₁₋₃₄ linked to a fibrin scaffold on the bone healing. We used a sheep model and a segmental diaphyseal defect with a gap size of 0.5 cm located in the midshaft of tibia. Two different dosages of TGplPTH₁₋₃₄ were compared (PTH1: 0.4 mg/ml, PTH2: 1.0 mg/ml). The sheep treated with autologous cancellous bone (Autograft) served as positive controls. The periods of observation were set at 3, 6 and 12 months. The tibia was stabilized with a low contact-dynamic compression plate supported by a cast of the hindlimb after surgery. After sacrifice the macroscopic, radiographical, biomechanical and micro-CT results were evaluated.

The statistical analysis of the radiographs revealed better results for the group Autograft in the early stage of fracture healing regarding callus-density, new formation of cortical callus and the remodeling activity of the callus. Nine and 12 months after surgery, however, there was no significant difference evident between the groups, whereas group PTH2 showed better results than group PTH1. As for the biomechanical tests, the tibiae of the sheep with an observation period of 3 months were excluded because of absent healing. The group Autograft stated the best torsion and stiffness results at 12 months after surgery, closely followed by group PTH2 when the torsion results were compared.

1 Einleitung

1.1 Problemstellung

In einer norwegischen Studie wird die Häufigkeit von Röhrenknochen-Frakturen auf rund 400 pro 100000 Menschen und pro Jahr beziffert [1]. Mehrheitlich ist bei Erwachsenen mit einer Heilungsrate von rund neun Monaten nach einer traumatisch bedingten Fraktur zu rechnen [2]. So stellen bei der Frakturheilung und –behandlung vor allem grosse strukturelle Defekte, die durch eine infektiions- oder tumor-bedingte Resektion oder einen missglückten Gelenkersatz bedingt sein können, ein Problem dar [3]. Behandlungsmöglichkeiten, welche die Knochenheilung positiv beeinflussen und somit die Heilungsdauer verkürzen sind für alle Fraktur-Patienten, besonders aber für Patienten mit strukturellen Defiziten, von grossem Interesse [4].

Es stehen heute verschiedene Therapiemöglichkeiten für diese Fälle zur Verfügung. Als Therapie der Wahl werden nach wie vor autogene Knochentransplantate (Autograft) in Defekte eingesetzt [5]. Weltweit werden 90% der Fälle im Bereich Knochenersatz mit Autograft oder Allograft behandelt [6] und jährlich rund 2.2 Millionen Knochentransplantationen durchgeführt [7].

Leider haften auch dieser Therapieform einige Nachteile an. Dabei sind vor allem Schmerzen an der Entnahmestelle [8], die limitierte Verfügbarkeit [9] und die verlängerte Anästhesiedauer anzuführen [9,10]. Andere biologische und synthetische Knochenersatzmaterialien stehen zwar zur Verfügung, jedoch erfüllt bisher keines alle Ansprüche, die an einen Knochenersatzstoff gestellt werden [8] und alle sind den erfolgreichen Resultaten der Autografts unterlegen. Daher ist die orthopädische Forschung weiterhin auf der Suche nach einem Knochenersatzstoff, der die erwünschten Kriterien möglichst zuverlässig und vollständig erfüllt. Dabei erstreckt sich diese Suche zunehmend auf Kombinationsprodukte, welche zum einen eine strukturelle Komponente (Matrix) für das Einwachsen der knochenbildenden Zellen aufweisen, zum anderen aber auch biomimetische Substanzen zur Beschleunigung der Knochenbildung enthalten.

1.2 Ziel der Studie

In dieser Studie wurde der Einsatz eines kombinierten Knochenersatzstoffes bestehend aus einer Fibrinmatrix und einem Derivat des Parathormons als Biomimetikum geprüft. Der Fokus dabei lag auf der Prüfung der radiologischen und biomechanischen

Eigenschaften an einem Tibia-Segmentdefekt-Modell bei Schafen nach einer lokalen einmaligen Verabreichung von zwei verschiedenen Dosen des chemisch veränderten, verkürzten und an eine Fibrinmatrix gebundenen humanen Parathormons (TGplPTH₁₋₃₄). Es sollte überprüft werden, ob der eingesetzte Knochenersatzstoff je nach angewandter Dosierung eine ähnliche oder bessere Knochenheilung im Vergleich zu Autograft erzielt und somit eine frühere Belastung und Mobilität des Patienten ermöglicht. Die Ergebnisse der mit dem Knochenersatzstoff behandelten Versuchstiere wurden mit den Ergebnissen der Tiere verglichen, die mit autologem Autograft behandelt wurden und als positive Kontrollgruppe fungierten.

Die Studie basierte auf der Hypothese, dass der Knochenersatzstoff eine vergleichbare Heilung der Tibia-Defekte erzielen würde wie die autologen Knochentransplantate. Aus früheren von uns durchgeführten (noch nicht veröffentlichten) Untersuchungen mit diesem Ersatzstoff und autologen Knochentransplantaten war bekannt, dass die histologischen Resultate bei einem 1 cm Tibia-Defekt vergleichbar waren. Es zeigten sich lediglich Unterschiede in der Art der Knochenbildung, wobei sich beim Knochenersatzstoff weniger ein periostaler sondern vielmehr ein endostaler Kallus bzw. sich vom Knochenmark her neuer Knochen bildete. Es wurde erwartet, dass dieser sich in der frühen Knochenheilungsphase in biomechanischer Hinsicht nicht so stabil wie die Autografts erweisen würde.

2 Literaturübersicht

2.1 Wahl des Versuchsmodells

Bei der Wahl des Versuchsmodells für eine wissenschaftliche Studie sollten die Eignung als Analogon zum Mensch, die Übertragbarkeit der gewonnenen Informationen, die genetische Einheitlichkeit und das Wissen über die biologischen Eigenschaften der Versuchstiere berücksichtigt werden. Weiterhin spielten die anfallenden Kosten, die Verfügbarkeit der gewählten Tierart sowie ökologische und ethische Aspekte eine wichtige Rolle [11].

Internationalen Richtlinien zufolge eignen sich Hunde, Schafe, Ziegen, Schweine, Kaninchen oder Nagetiere für Studien, die sich mit Knochenimplantaten beschäftigen. Darüber hinaus dienen u.a. Schafe als geeignete Versuchstiere für Langzeit-Studien [12].

In Bezug auf die Verfügbarkeit, die Einfachheit in Umgang und Unterbringung, die relativ niedrigen Kosten pro Tier und die soziale Akzeptanz als Versuchstiere sind Schafe für den Einsatz in Tiermodellen geeignet [13]. Sie werden oft als Tiermodell für orthopädische in vivo-Studien eingesetzt. Schafe ähneln dem Menschen in Bezug auf Grösse und Gewicht und zeigen eine ähnliche Remodellierungsrate des Knochens [14]. Sie sind deshalb u.a. bei Fragestellungen hinsichtlich biomechanischer Prozesse von Nutzen [15]. Zudem besitzen ihre Röhrenknochen eine Länge, die es ermöglicht humane Implantate und Prothesen einzusetzen [16]. Das Muster des Knochen-Einwachsens in poröse Implantate scheint bei Schafen und Menschen ähnlich zu verlaufen [17]. Ebenso zeigen Schafe eine ähnliche Knochenheilungsrate wie Menschen [18]. Die Mineral-Zusammensetzung eines Knochens unterscheidet sich zwischen Menschen, Rindern, Schafen und Hunden nach der frühen Wachstumsphase kaum [19]. Die Auswahl der Defektgrösse spielt ebenfalls eine wichtige Rolle, da sie die Heilungsrate massgeblich beeinflusst [14].

Jedoch gibt es auch einige Nachteile bei der Wahl von Schafen als Tiermodell. So unterscheidet sich die Knochenstruktur eines Schafes auf histologischer Ebene etwas von der des Menschen, indem die Dichte und die Festigkeit von Schafknochen deutlich höher sind als bei Menschen [20]. Grundsätzlich sollte jedoch berücksichtigt werden, dass man bei allen Tierarten eine schnellere Knochenheilung als beim Menschen erwartet [21], mit Ausnahme des Schafes, das einen ähnlichen Zeitverlauf zeigt. Während nicht-menschliche Primaten als Tiermodell für menschliche Knochen sehr geeignet wären [22], sprechen die ethischen Aspekte, die Kosten, das Risiko von Zoonosen und der komplizierte Umgang gegen ihren Einsatz [20].

Ähnlich verhält es sich bei Hunden als Versuchstieren. Neben einer deutlich schnelleren Knochenheilung sprechen auch hier vor allem ethische Bedenken gegen ihre Verwendung, obwohl ihre Knochenstruktur morphologisch der des Menschen recht ähnlich ist.

Der Anspruch, möglichst wenige Tiere für Versuche zu verwenden, stellt ein weiteres Ziel bei der Wahl eines geeigneten Tiermodelles dar. Eine abschliessende Beurteilung bzw. Untersuchung orthopädischer oder prothetischer Mittel erfordert den Einsatz von grossen Versuchstieren wie nicht-menschlichen Primaten, Hunden, Schweinen, Schafen oder Ziegen, da die Extremitäten und anatomischen Verhältnisse der Versuchstiere sowie die eingesetzten chirurgischen Instrumente den humanen Gegebenheiten möglichst nahe kommen sollen [21].

Da kein Tiermodell alle Anforderungen erfüllen kann, sind das Verständnis und das Wissen über die Unterschiede der Knocheneigenschaften zwischen Mensch und Tierspezies von bedeutender Rolle, um ein passendes Tiermodell für eine *in vivo*-Studie auszuwählen und um die Ergebnisse richtig interpretieren zu können. Auch wenn Tiermodelle die mechanischen und physiologischen Verhältnisse eines Menschen ziemlich genau darstellen können, sollte trotzdem stets beachtet werden, dass es sich bei jedem Tiermodell nur um eine Annäherung an die klinische Situation eines Menschen handelt [20].

2.2 Eigenschaften eines ideales Knochenersatzmaterials

Ein Knochenersatzmaterial sollte idealerweise folgende Fähigkeiten besitzen [6]:

- Osteoinduktion
- Osteokonduktion
- Osteogenese
- Osteointegration
- Biokompatibilität
- Porosität
- Stabilität bei Belastung
- Resorbierbarkeit/Abbaubarkeit
- Formbarkeit
- Sterilisierbarkeit

Osteokonduktive Knochenersatzmaterialien bilden ein Gerüst für einwandernde Zellen und neu entstandene Blutgefässe und unterstützen somit die Neubildung von Knochen [23]. Bestimmte Stoffe sind zur Osteogenese befähigt. Das bedeutet, dass sie die Differenzierung von Stammzellen oder Knochenvorläufer-Zellen zu Osteoblasten mithilfe bestimmter Zytokine bewirken [6]. Die Mehrzahl der Knochenersatzmaterialien dient jedoch hauptsächlich als „Füllmasse“ für Defekte und ist nur zur Osteointegration und –konduktion befähigt [3].

Ein biokompatibles Material weist weder toxische noch teratogene oder kanzerogene Eigenschaften auf. Entzündungs- und Abwehrreaktionen bleiben aus, da das Material keine antigene Wirkung besitzt [6]. Die Porosität eines Stoffes, also die Grösse der Hohlräume und die Verbindung zueinander, stellt eine wichtige Voraussetzung für das Einwachsen von neu gebildeten Gefässen dar [24]. Eine Poren-Grösse über 300 µm wird empfohlen, um die Bildung von Kapillaren und somit eine gesteigerte

Knochenneubildung zu erreichen [25]. Dabei ist immer noch unklar, wie der genaue Aufbau eines Knochenersatzstoffes idealerweise aussehen sollte, und dieser hängt stark vom genauen Verwendungszweck des Materials ab [26]. So entwickelten beispielsweise Böhner und Baumgart ein theoretisches Modell, um den Effekt der geometrischen Faktoren (dicht, mikro- oder makroporös) eines Knochenersatzstoffes auf seine Abbaurate vorherzusagen [27].

Wünschenswerte Eigenschaften von Knochenersatzmaterialien sind eine einfache Handhabung und die Sterilisierbarkeit [6] sowie die Formbarkeit eines Stoffes [3]. Des Weiteren sollten sie resorbierbar sein und eine Festigkeit besitzen, die der von kortikalem oder spongiösem Knochen ähnlich ist. Bei der Wahl eines Knochenersatzmaterials sollten die Eigenschaften, die Verfügbarkeit, die Immunogenität, eine potentielle Krankheitsübertragung und der Kostenfaktor eines Stoffes berücksichtigt werden. Die Auswahl des Ersatzstoffes sollte zudem in Abhängigkeit von dem medizinischen Einsatzgebiet und den individuellen Ansprüchen des einzelnen Patienten getroffen werden. Gut vaskularisierte Knochendefekte und umgebendes Bindegewebe sind gute Voraussetzungen für den Einsatz von Ersatzstoffen [8]. Knochenersatzmaterialien erfüllen als Freisetzungssysteme lokal eingesetzter Wachstumsfaktoren einen weiteren Zweck. Eine kontrollierte und vorhersehbare Resorption des Knochenersatzmaterials ist dabei hilfreich, um eine gleichmässige Freisetzung der Faktoren zu gewährleisten [3].

2.3 Übersicht der Knochenersatzmaterialien

Eine Übersicht der Knochenersatzmaterialien nach Laurencin et al. [28] wurde von Nandi et al. wie folgt modifiziert [29]:

- A. Gewonnene Knochentransplantate
 - Knochentransplantate
 - Autogene Knochentransplantate
 - Knochenmark
 - Allogene Knochentransplantate
 - Demineralisierte Knochenmatrix
- B. Wachstumsfaktoren-basierende Knochenersatzmaterialien
 - Insulin like growth factor (IGF-1)
 - Transforming growth factor (TGF β)
 - Basic fibroblast growth factor
 - Platelet derived growth factor
 - Vascular endothelial growth factor
 - Bone morphogenic proteins
- C. Zell-basierende Knochenersatzmaterialien
 - Stammzellen
 - Kollagen
 - Gentherapie
- D. Keramik-basierende Knochenersatzmaterialien
 - Kalziumhydroxyapatit
 - Trikalziumphosphat
 - Bioaktives Glas
 - Kalziumphosphatzement
 - Kalziumsulfat
- E. Polymer-basierende Knochenersatzmaterialien
- F. Sonstige

Im vorliegenden Versuch wurden Autografts und biomimetische Substanzen als Knochenersatzstoffe untersucht, wobei im Weiteren nur noch auf diese Substanzen näher eingegangen wird.

2.3.1 Autogene Knochentransplantate

Autogene Knochentransplantate (Autografts) werden immer noch als Gold-Standard im Zusammenhang mit Knochenersatz angesehen. Die grössten Vorteile dabei sind die minimalen immunologischen Abwehrreaktionen, die vorhandene Histo- oder Biokompatibilität sowie die osteoinduktiven und -konduktiven Eigenschaften [30]. Weiterhin sprechen die hohe Erfolgsrate und das niedrige Risiko einer Krankheitsübertragung für den Einsatz von autologen Transplantaten [9]. Es müssen jedoch auch Nachteile wie Schmerzen an der Entnahmestelle, die begrenzte Verfügbarkeit, das Risiko einer Wundinfektion und eines erhöhten Blutverlusts [8] und zuletzt die verlängerte Anästhesiedauer bedacht werden [9,10].

Bei autologen Transplantaten wird zwischen spongiösen und kortikalen Transplantaten unterschieden. Spongiöse Transplantate besitzen mehr osteogenetisches Potential als kortikale Transplantate [31]. Sie dienen dem Auffüllen von Defekten, bieten zu Beginn jedoch keine mechanische Stabilität. Zusammen mit den übertragenen Osteoblasten und ihren Vorläuferzellen fungieren spongiöse Transplantate vor allem als osteogentische, aber auch osteoinduktive und -konduktive Stoffe [8].

Kortikale Transplantate sind wenig oder kaum osteoinduktiv, dafür aber hauptsächlich osteokonduktiv. Sie besitzen in Abhängigkeit von den übertragenen Osteoblasten auch osteogenetische Eigenschaften durch die in der Matrix vorhandenen Wachstumsfaktoren IGF, BMP und TGF [32]. Sie bieten in den ersten sechs Wochen nach der Transplantation strukturellen Halt. Sowohl kortikale als auch spongiöse Transplantate sollten während der Heilung mithilfe einer Fixation stabilisiert werden [8].

Autologe Spongiosa wird meist am Beckenkamm gelegentlich auch distal vom Radius oder proximal von der Tibia gewonnen und für die verzögerte Heilung von Frakturen langer Knochen eingesetzt [33,34]. Mithilfe eines „Aufweiter-Irrigator-Aspirators“ wird die Markhöhle langer Knochen als weitere Quelle genutzt, um spongiöses Knochentransplantat zu gewinnen. Diese Technik ermöglicht das Gewinnen grosser Mengen autologer Spongiosa [35]. Der Transplantationsort spielt für die Osteogenese eine wichtige Rolle, da der Abbau und der Ersatz des Knochentransplantats an den Enden langer Knochen schneller voranschreitet als in der Mitte der Diaphyse [36]. Die Zeitdauer von der Entnahme des Transplantats bis zum Einsatz am Transplantationsort spielt eine bedeutende Rolle [37]. Da autogene Knochentransplantate nur bis zu zwei

Stunden in Kochsalzlösung hohe Proliferationsraten von osteoblasten-ähnlichen Zellen liefern [38], ist ein möglichst zeitnaher Einsatz der Transplantate besonders wichtig.

2.3.2 Bone Morphogenetic Proteins (BMPs)

BMPs haben in mehreren Tiermodellen ihren positiven Effekt auf die Heilung von Knochendefekten gezeigt [39]. BMPs sind eine Untergruppe der Transforming growth factor- β -Familie [8]. Rund 15 BMPs wurden beim Menschen identifiziert, wobei nicht alle eine osteogenetische Wirkung besitzen [40]. BMPs werden im Knochengewebe von Knochenvorläufer-Zellen, mesenchymalen Zellen, Osteoblasten, Chondrozyten und extrazellulärer Knochenmatrix gebildet [41]. In Abhängigkeit von der Zielzelle, ihrem Differenzierungsgrad, der lokalen Konzentration der BMPs und anderen vorkommenden Proteinen zeigen BMPs unterschiedliche regulatorische Wirkungen [40]. BMPs bewirken eine fortlaufende Kaskade bestimmter Reaktionen, welche die Chondrogenese, die Angiogenese und die Osteogenese zur Folge hat [42]. So ermöglichen BMPs während der Embryogenese, im Wachstum, im Erwachsenenalter und bei der Heilung die Neubildung skelett-assoziierten Gewebes [43]. Das Vorliegen bestimmter BMPs ist für verschiedene Mechanismen der Knochenneubildung erforderlich. Dabei hängt die BMP-vermittelte Knochenbildung stark von Inhibitoren und Stimulatoren ab, welche die Aktivität der BMPs regulieren [4].

Wachstumsfaktoren, die nur zur Osteoinduktion befähigt sind, benötigen einen osteokonduktiven Träger [8]. Da BMPs als lösliche Stoffe vorliegen, können sie vom Einsatzort weg diffundieren und inaktiviert werden. Deshalb werden z.B. rekombinante humane BMPs zusammen mit einer Kollagen-Matrix als Träger eingesetzt um die Abgabe und die Konzentration der BMPs am Einsatzort konstant zu halten [44]. Zudem sollte ein adäquater Trägerstoff den Abbau der BMPs durch Proteolyse verhindern und ein rasches Einwandern von Zellen ermöglichen [39]. Neben dem Einsatz verschiedener Trägerstoffe wird in jüngster Zeit auch die Gen-Therapie bzw. der Gen-Transfer für die lokale Abgabe von Wachstumsfaktoren verwendet [44].

BMPs werden einerseits zur Beschleunigung der Frakturheilung, andererseits aber auch bei Nonunions, segmentalen Defekten, Fusionen der Wirbelsäule und in Zusammenhang mit prothetischen Implantaten eingesetzt [45]. Klinisch werden vor allem rhBMP-2 und rhBMP-7 verwendet. In einer prospektiven Studie mit 450 Patienten, die eine offene Fraktur der Tibia aufwiesen, wurde die Wirkung von rhBMP-2 getestet. Dabei zeigten sich in der Gruppe der mit rhBMP-2-behandelten Patienten

eine höhere Heilungsrate, eine verkürzte Heilungsdauer, eine bessere Wundheilung und eine geringere Infektionsrate [46].

In einer klinischen Studie wurde die Wirkung von rhBMP-7 (mit einem Kollagen-Träger) mit Autograft bei der Behandlung von 124 Nonunions der Tibia verglichen. Dabei zeigte sich, dass 81% der rhBMP-7-Gruppe im Vergleich zu 85% der Autograft-Gruppe klinisch als „erfolgreich behandelt“ bezeichnet wurden. Jedoch wurden bei mehr als 20% der mit Autograft behandelten Patienten chronische Schmerzen an der Entnahmestelle verzeichnet [47]. In einer weiteren Studie wurde der Einsatz von rhBMP-7 bei distalen Tibia-Frakturen getestet. Dazu wurden 20 Patienten, deren Tibia-Frakturen mit einem Fixateur externe stabilisiert wurden, mit rhBMP-7 (an einem Rinder-Kollagen-Träger) behandelt. Die Vergleichsgruppe bestand aus 20 Patienten, die nicht mit rhBMP-7, sonst aber identisch behandelt wurden. Bei den mit rhBMP-7 behandelten Patienten zeigte sich, dass mehr Frakturen nach 16 bzw. 20 Wochen verheilt waren und dabei die Heilungsdauer signifikant kürzer war als bei der Kontroll-Gruppe [48]. In Zukunft sollen mithilfe spezifischer Träger-Systeme rhBMP-2 und rhBMP-7 zusammen eingesetzt und somit die Vorteile beider Faktoren genutzt werden [49].

Einige Autoren sehen jedoch nur einen begrenzten Nutzen von BMPs im klinischen Einsatz und werfen Fragen zu möglichen Komplikationen auf. So wurde in einer Studie über Nonunions der Tibia beim Menschen gezeigt, dass sich der klinische und radiologische Heilungsverlauf zwischen Patienten mit BMP- bzw. Autograft-Behandlung kaum unterscheidet [47]. Eine auftretende Komplikation beim Einsatz von BMPs zur Behandlung von Tibia-Plateau-Frakturen beim Menschen war die heterotopie Knochenbildung, die in wenigen Fällen auch eine chirurgische Intervention erforderlich machte [50]. In einer anderen Studie an Schafen wurde die BMP-induzierte Knochenresorption durch die Stimulation von Osteoklasten untersucht. Es zeigte sich eine Knochenresorption um die Implantate, die mit der BMP-Konzentration zunahm, jedoch nur vorübergehend nachweisbar war [51]. In einer Studie zur Therapie offener Tibia-Frakturen beim Menschen trat die Bildung von Antikörpern gegen rhBMP-2 und den Rinder-Kollagen-Träger als Nebenwirkung auf. Dennoch zeigte keiner der Patienten mit Antikörpern gegen das bovine Kollagen das gleichzeitige Auftreten von Antikörpern gegen das humane Typ 1-Kollagen [46].

Vor dem Einsatz der BMPs sollte auch berücksichtigt werden, dass die Kosten für eine Behandlung sehr hoch sind und sie zur Zeit noch nicht von der Food and Drug

Administration (FDA) für den Einsatz an den oberen Extremitäten zugelassen wurden bzw. dass gesonderte Anträge für den Einsatz bestimmter BMP-Faktoren gestellt werden müssen. Der Einsatz von BMPs ist bei Schwangerschaft, Patienten mit unausgereiftem Skelett und der Vorgeschichte von Krebs bzw. Knochentumoren kontraindiziert [8]. Eine retrospektive Studie wertete die Daten von über 90000 älteren Patienten aus, die sich einer chirurgischen Fusion der Lendenwirbelsäule unterzogen hatten. Bei 16,5% der Patienten wurde BMP eingesetzt, wobei in der Gruppe BMP-behandelter Patienten kein erhöhtes Risiko für Pankreaskrebs im Vergleich zur Gruppe ohne BMP-Behandlung festzustellen war [52]. Bisher wurden sehr hohe Dosen bei der Verabreichung von BMPs verwendet, um eine bessere Wirksamkeit zu erreichen. Nach der Verabreichung von rhBMPs wird ein negatives Feedback ausgelöst. Daraus resultiert die Produktion von BMP-Antagonisten, die wiederum die Aktivität der rhBMPs verringert [4]. In einer neueren Studie wurden deshalb verschiedene komplexe Träger-Stoffe untersucht, die eine gezielte lokale Wirkung von BMP ermöglichen und dabei eine möglichst niedrige BMP-Konzentration anstreben [53]. Abschliessend kann festgehalten werden, dass BMPs eine wirksame Behandlungsoption bleiben und bei korrekter Anwendung ein geringes Risiko an Nebenwirkungen besteht [4].

2.3.3 Parathormon (PTH)

Die Hauptfunktion von PTH_{1-84} besteht in der Regulation der Kalzium-Homöostase [54]. Dabei reagiert die Nebenschilddrüse auf kleinste Veränderungen der extrazellulären Kalzium-Konzentration: Ein Anstieg senkt die PTH-Sekretion, wohingegen ein Absinken zu einer vermehrten PTH-Sekretion führt. Die hauptsächlichen Zielorgane von PTH sind die Nieren und das Skelett [55].

Rekombinantes humanes PTH_{1-34} regt das Knochenwachstum an und wurde in den USA im Jahr 2002 für die Behandlung von Osteoporose bei Mann und Frau zugelassen [56]. Die Wirkung von PTH_{1-84} und seinem aktiven Fragment PTH_{1-34} auf Knochen ist vor allem von der Behandlungsdauer und dem Behandlungsmuster (intermittierend, konstant) abhängig [55].

Die katabole Wirkung von systemisch und kontinuierlich verabreichtem PTH wird damit begründet, dass es zu einer gesteigerten Expression von dem sogenannten Rezeptor-Aktivator des nuklearen Faktors- κB -Ligand (RANKL) führt, wodurch es in Zellkulturen zur Bildung von Osteoklasten und einem hemmenden Effekt auf Osteoprotegerin kam [57]. Jedoch besitzt PTH bei intermittierender Gabe und in

niedriger Dosierung anabole Effekte auf das Knochenwachstum [58]. So zeigte PTH in verschiedenen Studien, dass es bei einem intermittierenden Behandlungsregime die Fähigkeit hat, Osteoblasten zur Differenzierung anzuregen [59], die Apoptose von Osteoblasten zu hemmen [60] und die osteozytäre Bildung von Sclerostin herunterzufahren, welches eine hemmende Wirkung auf Osteoblasten besitzt [61].

In einer randomisierten, placebo-kontrollierten Studie mit 1637 postmenopausalen Teilnehmerinnen, die bereits eine Wirbel-Fraktur erlitten hatten, wurde die Anti-Fraktur-Wirkung von PTH untersucht. Mithilfe der Studie sollte festgestellt werden, ob durch tägliche PTH₁₋₃₄-Injektionen die Knochendichte zunimmt und die Anzahl neuer Frakturen verringert werden kann. Die Resultate zeigten, dass bei einer subkutanen Injektion von 20 µg pro Tag das Risiko neuer vertebraler und anderer Frakturen sank und die Knochendichte zunahm [62].

Doch nicht nur zur Therapie von Osteoporose und osteoporose-bedingten Frakturen sondern auch bei der Behandlung traumatisch bedingter Frakturen ist der Einsatz von PTH in Betracht zu ziehen. Durch eine beschleunigte und verbesserte Frakturheilung könnten Nachoperationen, lange Phasen der Immobilisation für die Patienten und die Mortalität minimiert werden [63]. So wurde in verschiedenen Studien gezeigt, dass durch die intermittierende Behandlung mit PTH₁₋₈₄ bzw. PTH₁₋₃₄ die Knochenneubildung bei der Frakturheilung gefördert [64] und die Grösse sowie die mechanische Stabilität des Kallus verbessert werden [65] .

In einer Studie wurde an einem Ratten-Osteotomie-Modell getestet, wie sich die Kombination von lokaler und systemischer PTH-Anwendung auf die Knochenheilung auswirkt. Die Tiere, die mit der kombinierten Methode behandelt wurden, zeigten signifikant höhere Werte für Knochendichte und Knochenmineraliengehalt sowie tendenziell eine grössere Knochenfläche in der mikroradiographischen Auswertung als die Kontrollgruppen [64]. PTH scheint bei heilenden spongiösen Knochen, die belastet werden und blutbildendes Knochenmark besitzen, am effektivsten zu wirken [66]. Daraus lässt sich schliessen, dass PTH bei Frakturen grundsätzlich eine bessere Wirkung erzielt als bei der Behandlung von Osteoporose [63].

Trotz vieler Vorteile bestehen auch Bedenken bei der Behandlung mit PTH₁₋₃₄. So zeigte eine Studie ein erhöhtes Auftreten von Osteosarkomen bei Ratten, die über einen Zeitraum von zwei Jahren täglich mit PTH₁₋₃₄ in subkutaner Form behandelt wurden [67]. Diese Ergebnisse können jedoch nicht direkt auf den Menschen übertragen werden, da es deutliche Unterschiede in der Knochen-Physiologie zwischen Nagern und

Menschen gibt [56]. Somit scheint die Verträglichkeit von PTH₁₋₃₄ bei Menschen und einer Anwendungsdauer von bis zu zwei Jahren gesichert zu sein [68]. Jedoch sind weitere Studien zur PTH-Therapie erforderlich um zu klären, ob PTH länger als zwei Jahre bedenkenlos verabreicht werden kann [54]. Ebenso sind kontinuierliche Untersuchungen der Patienten wegen möglicher Spätfolgen notwendig, da noch keine Langzeit-Ergebnisse vorliegen [63].

Die Mehrheit der Studien über den Einsatz von PTH bei Knochenerkrankungen basiert auf einer systemischen, meist intermittierenden Verabreichung des PTH. Im Vergleich dazu liegen wenige Ergebnisse über den lokalen Einsatz von PTH bei Knochendefekten vor. Amerikanische Forscher implantierten eine Trägersubstanz mit darin enthaltenen Plasmiden, die für PTH₁₋₃₄ kodieren, in die segmentalen Femur-Defekte von Ratten, wodurch die Knochenneubildung verbessert wurde [69]. Eine weitere Studie untersuchte den Effekt von PTH, das kovalent an eine Polyethylenglykol-Matrix gebunden war, auf die Regeneration von Knochendefekten nach dem Setzen von Titan-Implantaten in die Mandibula von Hunden. Auch hierbei zeigte das matrix-gebundene PTH₁₋₃₄ einen positiven Effekt auf das Knochenwachstum [70]. Um eine bessere lokale Verfügbarkeit von PTH zu erreichen, wurde ein biologisch abbaubares, implantierbares Zufuhrsystem entwickelt, das intermittierend PTH abgibt. Erste *in vitro*-Versuche bestätigten die Abgabe von biologisch aktivem PTH, wodurch das System zukünftig lokal und systemisch Anwendung finden könnte [71]. Mit speziell entwickelten „verkapselten Mikrokugeln“, die PTH enthalten und lokal angewendet werden, konnte bei *in vitro*- und *in vivo*-Tests die Abgabe von biologisch aktivem PTH nachgewiesen werden [72].

2.4 Biomechanische Tests

Die Qualität von Knochengewebe hängt von der generellen Knochen-Struktur und den biomechanischen Eigenschaften des Knochens ab [73]. Knochen ist ein faseriges, richtungsabhängiges Gewebe, das durch die Ausrichtung der Lamellen und Osteone Festigkeit in einer bestimmten Richtung besitzt [74]. Die Methoden zur Bestimmung mechanischer Eigenschaften von Knochen basieren auf den grundsätzlichen Prinzipien der Mechanik. Dabei spielen im Wesentlichen Spannungs-, Druck- und Torsionstests eine Rolle. Da Knochengewebe je nach Struktur unterschiedlich ausgerichtet ist, hängt das mechanische Verhalten des Gewebes von der Ausrichtung der zugeführten

Belastung ab [75]. Knochen kann brechen, wenn er Belastungen ausgesetzt wird, die seine Anisotropie stören [74].

Eine komplette Untersuchung des biomechanischen Verhaltens von Knochen erfordert biomechanische Tests in verschiedenen Ausrichtungen. Folgende Hauptziele wurden für biomechanische Tests von Knochen definiert [75]:

- Die Untersuchung von Struktur und Funktion, um ihren Zusammenhang und mögliche Konsequenzen zu evaluieren.
- Die Bestimmung der Ätiologie und Pathogenese bestimmter Erkrankungen, um zur Verbesserung von Therapie und Prävention beizutragen.
- Die funktionelle Untersuchung des Knochenverhaltens nach rekonstruktiven Massnahmen.
- Die Durchführung biomechanischer Tests, um Daten für Berechnungs-Modelle zur Knochenmechanik, -adaption und -reparatur zu erhalten.

Die Heilung einer Knochenfraktur beinhaltet verschiedene zusammenhängende biologische Reaktionen, die sowohl durch mechanische Faktoren, wie z.B. die Stabilität der Osteosynthese, als auch durch biologische Faktoren beeinflusst werden [76].

Die Biomechanik der Frakturheilung kann in vier Stufen eingeteilt werden [77]:

1. Der Knochen bricht in der Frakturstelle. Während die Steifigkeit niedrig ist, liegt eine starke Deformation des Knochens vor.
2. Der Knochen bricht in der Frakturstelle, wobei die Steifigkeit höher und die Deformation geringer ist.
3. Der Knochen bricht in der Frakturstelle und im intakten Knochengewebe. Die Steifigkeit liegt im gleichen Bereich wie bei Stufe 2.
4. Der Knochen frakturiert ausserhalb des Frakturbereichs, was für eine sehr hohe Steifigkeit des Knochens spricht.

Torsions-Tests werden mit verschiedenen Knochen-Typen durchgeführt und häufig werden ganze Knochen von Nagern oder trabekuläre bzw. kortikale Knochen-Stücke eingesetzt [73]. Bei Tests mit ganzen Knochen tritt die Schwierigkeit auf, den Knochen adäquat in der Testmaschine zu befestigen. Ganze Knochen werden häufig eingesetzt, um die mechanischen Eigenschaften des Kallus oder des heilenden Knochens zu untersuchen [75]. Die mechanischen und histologischen Eigenschaften der untersuchten Knochen nahmen bei einer Knochendefekt-Studie an Schafen mit zunehmender Grösse des Osteotomie-Defekts ab. Somit ist die mechanische Qualität der Knochenheilung

nach einer Osteotomie von der Qualität des Knochengewebes im Defektbereich und von der Grösse des Defekts abhängig [14].

Torsion führt zu Schubspannung (Scherkräfte) im Knochen und somit auch zu Spannung und Druck (Kompression), die 45° zur Längsachse des Knochens einwirken. Die Festigkeit während der Torsion nimmt mit dem Knochen-Durchmesser oder seiner Querschnittsfläche und somit mit dem polaren Trägheitsmoment zu. Die einfache mechanisch-technische Drehmoment-Theorie erlaubt die Schätzung maximaler Drehmomente. Es ergeben sich jedoch nur korrekte Werte, wenn die getesteten Knochen kreisförmige Querschnitte besitzen, was bei einer menschlichen Tibia nicht zutreffend ist [78].

In einer Kadaver-Studie mit 20 menschlichen Tibiae wurde herausgefunden, dass die Festigkeit der Tibia nicht von der Richtung des zugeführten Drehmoments abhängig ist. Zudem zeigte sich, dass eine höhere Korrelation ($r = 0.82$) zwischen dem polaren Trägheitsmoment auf Höhe des Tibia-Isthmus und Bruchmoment als zwischen der Dichte des Querschnitts auf Höhe des Isthmus und dem Bruchmoment besteht ($r = 0.57$). Das polare Trägheitsmoment steht dabei stellvertretend für die Grösse des Knochens [79]. In einer weiteren Studie wurde festgestellt, dass das Bruchmoment umso mehr ansteigt, desto kleiner der Bruchdrehwinkel ist. Bei niedriger Geschwindigkeit ($6^\circ/\text{s}$) lag das durchschnittliche Drehmoment bei 92 Nm [80].

Um aussagekräftige Ergebnisse bei biomechanischen Studien zu erhalten, sollten idealerweise Kontrollen an den kontralateralen Knochen durchgeführt werden [75]. Die Überwachung der Fraktur-Steifigkeit hat sich für die Untersuchung des Heilungsverlaufs als hilfreich erwiesen und kann zu der frühen Erkennung von verzögerter Knochenheilung dienen [81].

In verschiedenen Studien wurden Zusammenhänge zwischen klinischen und biomechanischen Faktoren herausgefunden [73]. So zeigte eine Studie, dass die Schubspann-Werte aus Torsions- und Schubtests mit der Knochendichte korrelieren [82]. Eine weitere Studie ergab eine hohe positive Korrelation zwischen dem Torsionsmoment und der strukturellen Steifigkeit, die aus MRT-Bildern berechnet wurde [83].

3 Material und Methoden

3.1 Aufbau der Studie

In der vorliegenden Studie wurden 54 adulte weibliche Schweizer Alpen Schafe als Versuchstiere verwendet. Das Durchschnittsalter lag bei 2.3 ± 0.5 Jahren und das durchschnittliche Körpergewicht bei 64.4 ± 6.4 kg.

Allen Schafen wurde mittels Osteotomie ein 0.5 cm grosses Knochensegment aus der mittleren Tibia-Diaphyse entfernt. Zur mechanischen Stabilisierung wurden beide Knochenstücke mithilfe einer 12-Loch limited contact dynamic compression plate (LC-DCP, Synthes®, VP 305112/6255298, Oberdorf, Schweiz) fixiert.

Die Einteilung der Schafe erfolgte in drei Gruppen. Jede Gruppe bestand aus 18 Schafen. Der Überlebenszeitraum betrug drei, sechs bzw. zwölf Monate. In jeder Gruppe wurden die Defekte von jeweils sechs Schafen mit autologer Spongiosa (Autograft), 0.4 mg/ml TGplPTH₁₋₃₄ (PTH1) bzw. 1 mg/ml TGplPTH₁₋₃₄ (PTH2) aufgefüllt (siehe Tabelle 3.1). Die 18 Schafe, deren Defekte mit autologer Spongiosa aufgefüllt wurden, dienten als Positivkontrolle. Die Hälfte der Tiere wurde am rechten Hinterbein, die andere Hälfte am linken Hinterbein operiert. Das kontralaterale (nicht operierte) Hinterbein diente jeweils als Kontrolle für die operierte Seite.

Der Tierversuch wurde von dem kantonalen Veterinäramt bewilligt (Bewilligungsnummer 141/2011) und folgte den gesetzlichen Bestimmungen des schweizerischen Tierschutzgesetzes.

Tabelle 3.1.1: Überblick über Schafnummern, Überlebenszeitraum und Materialien

Schafnummer	Überlebenszeitraum	Behandelte Tibia	Verwendetes Material	Bezeichnung
16.01 - 16.03	1 Jahr	Rechts	Autologe Spongiosa	Autograft
16.04 - 16.06		Links		
16.07 - 16.09		Rechts	0,4 mg/ml TGplPTH ₁₋₃₄	PTH 1
16.10 - 16.12		Links		
16.13 - 16.15		Rechts	1,0 mg/ml TGplPTH ₁₋₃₄	PTH 2
16.16 - 16.18		Links		
16.19 - 16.21	6 Monate	Rechts	Autologe Spongiosa	Autograft
16.22 - 16.24		Links		
16.25 - 16.27		Rechts	0,4 mg/ml TGplPTH ₁₋₃₄	PTH 1
16.28 - 16.30		Links		
16.31 - 16.33		Rechts	1,0 mg/ml TGplPTH ₁₋₃₄	PTH 2
16.34 - 16.36		Links		
16.37 - 16.39	3 Monate	Rechts	Autologe Spongiosa	Autograft
16.40 - 16.42		Links		
16.43 - 16.45		Rechts	0,4 mg/ml TGplPTH ₁₋₃₄	PTH 1
16.46 - 16.48		Links		
16.49 - 16.51		Rechts	1,0 mg/ml TGplPTH ₁₋₃₄	PTH 2
16.52 - 16.54		Links		

3.2 Vorbereitung

Die Schafe unserer Forschungseinheit wurden vor Versuchsbeginn und im Zeitraum vom vorläufigen Beobachtungsende bis zur Schlachtung auf einem Hof in der Nähe von Zürich (Staffelegg Hof) gehalten. Mithilfe einer gründlichen Allgemeinuntersuchung konnten Tiere mit reduziertem Allgemeinbefinden, bestehenden Verletzungen oder ansteckenden Krankheiten vom Ankauf ausgeschlossen werden. Der Ausschluss einer Trächtigkeit erfolgte mit transrektaler und –abdominaler Ultrasonografie. Zur serologischen Untersuchung auf Maedi-Visna-Antikörper erfolgte eine Blutentnahme von allen Schafen an der Vena jugularis mit einem Vacutainer-System (Bellevier Industrial Estate, Plymouth, Grossbritannien). Das Blut wurde im Anschluss an das virologische Institut der Vetsuisse-Fakultät Bern geschickt und auf Antikörper gegen das Maedi-Visna-Virus untersucht. Tiere mit positivem Antikörper-Titer gegen das Maedi-Visna-Virus wurden der Behörde gemeldet und umgehend geschlachtet. Die als gesund beurteilten Tiere wurden in die Herde aufgenommen und mit einer betriebsinternen Ohrmarke gekennzeichnet.

Die antiparasitäre Behandlung erfolgte vier Mal jährlich mit Netobimin (Hapadex[®], 4 ml/10 kg KGW p.o., Veterinaria AG, Zürich, Schweiz) und zwei Mal jährlich mit Doramectin (Dectomax[®], 0.2 mg/kg KGW s.c. oder i.m., Provet AG, Lyssach). Es erfolgte zudem eine Grundimmunisierung mit Footvax[®] (eine Dosis entspricht 1 ml, s.c., Veterinaria AG, Freienbach, Pfäffikon) gegen Moderhinke und Ovilis[®] Heptavac P (eine Dosis entspricht 2 ml, s.c., Veterinaria AG, Freienbach, Pfäffikon) gegen verschiedene Clostridien- und Pasteurellenstämme.

Die Bestandsbetreuung der Tiere erfolgte durch die Tierärzte der Forschungseinheit im Abstand von sechs bis acht Wochen und beinhaltete die Klauenpflege, Entwurmungen und Impfungen der Schafe sowie einen allgemeinen Gesundheits-Check.

3.3 Operation

3.3.1 Operationsvorbereitung

Die Schafe wurden zwei Wochen vor Versuchsbeginn im nahe gelegenen Stall der Forschungseinheit eingestallt, um genug Zeit für die Eingewöhnung der Tiere zu gewähren. Ihr Allgemeinzustand wurde morgens und abends von einem verantwortlichen Tierarzt überprüft. Wenige Tage vor der Operation wurden sie klinisch untersucht, gewogen, geschoren (zu operierendes Hinterbein, angrenzender Bauch, kompletter Hals) und entwurmt. Zusätzlich wurden mithilfe eines Vacutainer-Systems Blut abgenommen und eine präoperative Blut-Untersuchung (Hämatologie und kleines Chemogramm) durchgeführt. Die Tiere wurden ein bis zwei Tage vor der Operation in einen dem OP-Raum nahe liegenden Stall des Tierspitals transportiert, um die Transportzeit am Operationstag so kurz wie möglich zu halten und damit den präoperativen Stress zu verringern. Die Schafe wurden 24 Stunden vor der Operation nicht gefüttert, hatten jedoch freien Zugang zu Wasser.

Das anästhesierte Schaf wurde in rechter oder linker Seitenlage auf dem OP-Tisch gelagert, wobei das zu operierende Bein unten gelegen war. Das nicht zu operierende, obere Bein wurde mit einem Strick nach craniodorsal ausgebunden, um die Umgebung des OP-Feldes möglichst rein zu halten und die mediale Seite des zu operierenden Beines dem Eingriff zugänglich zu machen. Das zu operierende Hinterbein wurde mithilfe der OP-Matte möglichst plan gelagert und erneut geschoren, die Klaue geschnitten, gewaschen und eingebunden, um eine Kontamination des OP-Feldes zu

verhindern. Nach standardisierter Vorgehensweise wurde das OP-Feld gereinigt, entfettet, desinfiziert und steril abgedeckt.

3.3.2 Anästhesie

Am Morgen vor der Operation wurden die Tiere einer klinischen und präanästhetischen Untersuchung unterzogen. Dabei wurden die innere Körpertemperatur, die Herz- und Atemfrequenz, die Kotbeschaffenheit und das Allgemeinverhalten untersucht bzw. beurteilt. Weiterhin wurden die Haut, die Lymphknoten, die Schleimhäute, die kapillare Füllungszeit, das Herzkreislauf-System, der Atmungstrakt, der Gastrointestinaltrakt, die Klauen, die Gelenke und die Muskulatur, der Geschlechtstrakt sowie das Nervensystem untersucht. Lagen keine Besonderheiten vor, so wurden die Tiere für die Anästhesie vorbereitet. Eine halbe Stunde vor der Einleitung der Anästhesie wurden die Schafe mit Xylazin (Xylazin Streuli® ad us. vet., 0.1 mg/kg KGW, Streuli Pharma AG, Uznach, Schweiz) und Buprenorphin (Temgesic®, 0.01 mg/kg KGW, Essex Chemie AG, Luzern, Schweiz) prämediziert. Nach dem Einsetzen der Wirkung der Prämedikation wurde ein venöser Katheter (BD Angiocath TM, 2.1 x 83 mm, REF 382268) in die Vena jugularis dextra oder sinistra gesetzt und mit vier Hautheften (Supramid®, 2-0, B. Braun, Aesculap AG, Tuttlingen, Deutschland) fixiert. Präoperativ erhielten die Tiere Benzyl-Penicillin (30000 I.E./kg KGW, Penicillin Natrium Streuli, Streuli Pharma AG, Uznach, Schweiz), Gentamicin (4 mg/kg KGW, Vetagent®, Veterinaria AG, Zürich, Schweiz), Carprofen (4 mg/kg KGW, Rimadyl®, Pfizer AG, Zürich, Schweiz) und equines Tetanus-Antitoxin (3000 I.E., Tetanus-Serum Intervet, Veterinaria AG, Zürich, Schweiz). Zur Einleitung der Anästhesie wurde das Schaf in sternaler Lage von einem Tierarzt fixiert. Die Narkose wurde mit Ketamin (3-5 mg/kg KGW, Narketan 10®, Vetoquinol AG, Bern, Schweiz), Diazepam (0.1 mg/kg KGW, Valium®, Roche Pharma AG, Reinach, Schweiz) und Propofol (0.2-0.4 mg/kg KGW, Propofol® 1% MCT Fresenius, Fresenius Kabi AG, Stans, Schweiz) eingeleitet. Die Intubation (Tubus Grösse 10-12) erfolgte nach lokaler Betäubung des Kehlkopfs mit Lidocain-Spray (10-20 mg Lidocain, Xylocain® Pumpenspray, Astra Zeneca AG, Zug, Schweiz). Anschliessend wurde die Narkose mittels Isofluran-Sauerstoff-Inhalation (1-1.5 Vol %, Isoflo®, Abbott AG, Baar, Schweiz) aufrechterhalten und das Tier in rechter oder linker Seitenlage auf dem OP-Tisch gelagert. Zur Stabilisierung des Flüssigkeitshaushaltes wurden die Schafe während der Narkose mit Ringer-Laktat (10 ml/kg KGW/h, Fresenius Kabi AG, Stans, Schweiz) infundiert. Um das Austrocknen der Cornea zu

verhindern, wurde eine Augensalbe (Vitamin A Dispersa®, Novartis AG, Schweiz) in beide Augen gegeben. Das nicht-apparative Monitoring erfolgte anhand der Beurteilung des Lidreflexes, der Bulbusstellung und der Schleimhäute. Das apparative Monitoring beinhaltete die Elektrokardiografie, die arterielle Blutdruckmessung, die Pulsoxymetrie und die Kapnografie.

3.3.3 Operation

Nach dem Abdecken des Tieres mit sterilen Tüchern erfolgte der Hautschnitt von ca. 5 cm distal des Kniegelenkes bis ca. 2 cm proximal des Tarsokruralgelenkes an der medialen Seite des zu operierenden Hinterbeines. Das Weichteilgewebe (Subkutis, Fascia lata) wurde durchtrennt und die Tibia frei gelegt, ohne dabei das Periosteum zu verletzen. Auftretende Blutungen wurden mit einem Elektroauter (Berchtold Elektrotom 80, Vertrieb Hausmann, St. Gallen, Schweiz) gestillt. Eine 12-Loch-Platte (LC-DCP, Synthes®, VP 305112/6255298, Oberdorf, Schweiz) wurde mit einem Plattenbieger (Synthes®, Oberdorf, Schweiz) der Knochenoberfläche angepasst. Das distale Ende der Platte sollte dabei ca. 2 cm proximal des Tarsokruralgelenkes enden. Die Bezifferung der Schraubenlöcher erfolgte von proximal nach distal. Das oberste Loch der Platte hatte eine andere Form und wurde nicht benutzt, da es ausschliesslich zur vorläufigen Befestigung der Platte während des Bohrens der Schraubenlöcher diente. Es wurde bei der Bezifferung der Schraubenlöcher nicht berücksichtigt, wodurch sich eine Nummerierung der Schraubenlöcher von eins bis elf ergab.

Die Platte wurde anschliessend mit elf 3,5 mm Kortikalisschrauben (Synthes®, Modell 204.018-030, Oberdorf, Schweiz) fixiert, wobei sechs Schrauben proximal und fünf Schrauben distal des Defekts gesetzt wurden. Zuerst wurden die Schraubenlöcher drei und zehn gebohrt, die Schraubenlänge gemessen, Gewinde geschnitten und die jeweils passende Schraube eingesetzt. Anschliessend wurden die Schraubenlöcher fünf und acht exzentrisch gebohrt, um eine Distraction zu erreichen. Alle weiteren Schraubenlöcher wurden in neutraler Position gebohrt, die Schraubenlänge gemessen, die Schrauben jedoch noch nicht eingesetzt, sondern bereit gelegt, um nach dem Setzen des Defektes eingesetzt zu werden. Nach Markierung der geplanten Defektstelle mithilfe des Elektroauters zwischen den Schraubenlöchern sechs und sieben erfolgte die Entfernung der Platte. Zum Schutz des umliegenden Weichteilgewebes wurden zwei Hohmann-Hebel kranial und kaudal der Tibia eingesetzt und das umliegende Gewebe dadurch aus dem OP-Feld gehalten. Mithilfe eines speziellen parallel schneidenden

Doppelsägeblattes (Spezialanfertigung, Synthes[®], Oberdorf, Schweiz) wurde das 0.5 cm grosse Knochenstück entfernt. Die Kühlung des Knochens während des Sägeprozesses erfolgte mit Kochsalzlösung, um Nekrosen durch Hitzeentwicklung zu vermeiden. Das scheibenförmige Knochenstück wurde zusammen mit dem umgebenden Periost entfernt. Zur Stabilisierung wurden die zuvor angepasste Platte an die Tibia angebracht und alle Schrauben inseriert. Das verwendete Biomaterial wurde steril vorbereitet und in den Defekt eingefüllt. Die Muskulatur wurde zurück verlagert und die mediale Faszie mit resorbierbarem Nahtmaterial (Polyglactin, 2-0 Vicryl[®], Johnson & Johnson Int., Brüssel, Belgien) und einer Naht nach Kürschner vernäht. Danach folgte eine einfache fortlaufende Subkutannaht und der Verschluss der Haut mit Metallklammern (Auto Suture Appose ULC[®], United States Surgical, Norwalk, USA).

Den 18 Schafen der positiven Kontrollgruppe wurde mithilfe eines scharfen Löffels von der vorher aseptisch vorbereiteten Crista iliaca des Beckens Knochenmark entnommen und in die Defekte eingesetzt.

3.4 Postoperatives Management

Allen Schafen wurde nach der Operation eine projektbezogene Ohrmarke eingezogen und ein Mikrochip (RID[®]RF-Identification Technology, Data Mars AG, Lugano, Schweiz) an der linken Halsseite implantiert. Zur Überprüfung der richtigen Positionierung von Platte und Schrauben erfolgte postoperativ eine routinemässige Anfertigung von digitalen Röntgenbildern (mobiles Röntgengerät, 70 kV, 2.5 mAS) in zwei Ebenen (anterior-posteriorer und medio-lateraler Strahlengang). Zur Immobilisierung der gesamten Gliedmasse und Verringerung der auf den Defekt wirkenden Scher- und Drehkräfte wurde den Schafen ein Castverband angelegt, der die Klaue einschloss und bis proximal des Kniegelenkes reichte. Zusätzlich wurde ein Netz (entworfen von Ruedi Keller, Pferdeklarinik, Rescue Group der Vetsuisse-Fakultät Zürich) angelegt, das der Aufhängung der Tiere in ihren Boxen diente. Nach Abklingen des Narkosegases und Wiedereinsetzen des Schluckreflexes wurde das Schaf extubiert und mit einer Trage in den Transporter gebracht. Ein Tierarzt begleitete das Schaf auf dem Weg vom OP-Raum in den Stall. Dort angekommen wurden die Vitalfunktionen überwacht und das Netz an der Aufhänge-Vorrichtung befestigt. Der zuständige Tierarzt beobachtete das Tier bis es selbstständig stand und Heu frass. Die Tiere wurden für einen Zeitraum von vier Wochen in Einzelboxen eingestallt und mithilfe einer Aufhänge-Vorrichtung (Flaschenzug an Karabinerhaken) aufgehängt. Die Aufhänge-

Vorrichtung sollte das Niederlegen der Schafe und eine zu starke Lastaufnahme auf das operierte Bein und damit eine Refrakturierung des operierten Beines verhindern. Die Tiere konnten sich aber trotz der Aufhängung frei in der Box bewegen, Futter und Wasser aufnehmen sowie Harn und Kot absetzen. Alle Schafe erhielten am OP-Tag sowie an den drei Folgetagen Penicillin, Gentamicin und Carprofen. Weiterhin wurden alle Schafe am OP-Tag mindestens zwei Mal im Abstand von vier Stunden mit Buprenorphin versorgt, um eine ausreichende Schmerztherapie sicherzustellen. Nach der letzten Gabe der postoperativen Medikamente wurde der Venenverweilkatheter gezogen. Der Gesundheitszustand aller Tiere wurde morgens und abends von einem Tierarzt der Forschungseinheit überprüft. Dabei wurde besonders darauf geachtet, ob der Castverband und das Netz richtig saßen und keine Druckstellen vorlagen. Nach vier Wochen wurden die Schafe aus der Aufhänge-Vorrichtung genommen und in Zweiergruppen in grössere Boxen verbracht. Zu diesem Zeitpunkt wurden die Schafe das erste Mal postoperativ geröntgt und neue Castverbände angelegt. Dabei wurden alle Hautklammern entfernt und die Klauen geschnitten.

3.5 Eingesetztes Knochenersatzmaterial

Das Parathyroidhormon-Fusionsprotein (TGplPTH₁₋₃₄) diente in zwei unterschiedlichen Dosen (0.4 mg/ml TGplPTH₁₋₃₄ bzw. 1 mg/ml TGplPTH₁₋₃₄) und gebunden an eine Fibrinmatrix als eingesetztes Knochenersatzmaterial. Das aktive Fragment von TGplPTH₁₋₃₄ ist das biologisch wirksame PTH₁₋₃₄. Es wurde in der vorliegenden Studie an ein Transglutaminase-Substrat gekoppelt, um eine kovalente Bindung an die Fibrinmatrix zu ermöglichen. TGplPTH₁₋₃₄ wird nach dem Einsatz in den Knochendefekt enzymatisch gespalten, wodurch eine langsame und intermittierende Freisetzung an die direkte Umgebung möglich wird.

Zur Herstellung des Knochenersatzmaterials wurde das PTH-Fusionsprotein mithilfe des Faktors XIIIa an ein Fibrin-Polymer gebunden. Nach der Abspaltung des PTH-Fragments durch endogenes Plasmin wandelte sich die inaktive Vorstufe durch die Einwanderung bestimmter Zellen in die aktive Form um. Die verwendete Vernetzungstechnologie beruhte also darauf, dass biologisch aktive Proteine während des Gerinnungsprozesses kovalent an eine Fibrin-Matrix gebunden und somit immobilisiert wurden. Neben der verzögerten Abgabe des Fusionsproteins wurde auch die Fibrinmatrix resorbiert und somit eine frühe Revaskularisation und Infiltration mit osteogenen Vorläuferzellen ermöglicht.

Das verwendete Biomaterial wurde in gefrorenem Zustand gelagert und war unter diesen Bedingungen mindestens ein Jahr haltbar. Nach dem Auftauen sollte ein erneutes Einfrieren und Wieder-Auftauen verhindert werden, da eine korrekte Gelbildung sonst nicht gewährleistet werden konnte.

Das verwendete Material wurde in zwei Spritzen bereitgestellt. Dabei enthielt eine Spritze 1 ml TGIPTH₁₋₃₄-Fibrinogen-Gemisch und die andere Spritze 1 ml Thrombin. Vor der Verabreichung mussten die Komponenten mindestens 65 Minuten in einem Inkubator mit 37 Grad Celsius aufgetaut werden. Durch den Auftau-Prozess wurden alle Bestandteile auf eine Temperatur von 25-37 Grad Celsius aufgewärmt. Um die Sterilität zu gewährleisten, wurden die Spritzen während des ganzen Prozesses in ihrer Verpackung belassen.

Die Komponenten in beiden Spritzen wurden nach dem Auftau-Prozess auf Klarheit und das Freisein von Präzipitaten geprüft. Nach dem Mischen beider Komponenten wurde das Gemisch fünf Mal durch das Verbindungsstück eines Doppel-Spritzen-Fertig-Systems (Baxter Rapid Fill Connector, Luer Lock to Luer Connector, Baxter Healthcare Corp., Englewood CO 80112, USA) hin und her gespritzt.

Nach 30-60 Sekunden ergaben sich daraus eine weiche Paste und eine zu applizierende Gesamtmenge von 2 ml, die dann in den Defekt gefüllt werden konnte.

3.6 Gewinnung und Aufbereitung der Proben

Pro Schlachttag wurden drei Tiere in der Schlachthalle des Tierspitals geschlachtet. Die Tiere wurden mittels Bolzenschuss betäubt und durch Blutentzug (Venae jugularis) getötet. Beide Tibiae (sowohl Defekt-Tibia als auch Kontroll-Tibia) wurden im Anschluss im Knie- und Tarsokruralgelenk exartikuliert und von Haut, Fettgewebe, Muskulatur, Sehnen und Bindegewebe frei präpariert. Mit einer Digitalkamera wurde die Defekt-Tibia jedes Schafes fotografiert. Die Knochen wurden mittels in Kochsalzlösung getränkter Tupfer kalt und feucht gehalten. Mit dem Faxitron-Gerät (58 kV, 1 s, hp cabinet x-ray system – Faxitron series, Model Nr. 43855A, Hewlett Packard, Palo Alto, Kalifornien, USA) wurden von der Defekt-Tibia jedes Schafes eine mediolaterale und eine kраниokaudale Röntgenaufnahme angefertigt. Im Anschluss daran wurden die lateralen Condylen mit einer mechanischen Säge entfernt, um eine spätere Einbettung in die Einbettungszyylinder für die biomechanische Testung zu ermöglichen. Die Osteosynthese-Platten wurden vorsichtig mithilfe von Hammer und Osteotom vom Knochen entfernt. Die Defekt-Tibiae wurden danach erneut fotografiert.

Alle Knochen wurden dann in eine gekühlte Styropor-Box verbracht und zur ETH am Höggerberg transportiert. Im biomechanischen Institut der ETH (Leitung Prof. Dr. Stephen J. Ferguson) wurden alle Tibiae (sowohl Defekt- als auch Kontroll-Tibiae) einem Torsionstest bis zum Bruchpunkt unterzogen. Nach der Testung wurden die Knochen erneut fotografiert und mithilfe einer Handsäge aus den Metallzylindern gesägt. Für den Transport zum Tierspital wurden die Knochenstücke erneut in die Kühlbox verbracht. Im histologischen Labor der Forschungseinheit wurden die Knochen dann zunächst für sieben Tage in Formalin und anschliessend in eine aufsteigende Alkoholreihe (40-70%) eingelegt, bis ein Alkoholgehalt von 70% erreicht war, um später eventuell noch histologische Untersuchungen anstellen zu können (nicht Teil dieser Arbeit).

3.7 Untersuchungsmethoden

3.7.1 Röntgenaufnahmen

Bei allen Versuchstieren wurden nach einem, zwei und drei Monaten Röntgenbilder in zwei Ebenen (anterior-posterior und medio-lateral) angefertigt. Bei den Tieren mit sechs und zwölf Monaten Überlebenszeitraum wurden zusätzlich nach sechs Monaten und bei den Tieren mit zwölf Monaten Überlebenszeitraum zusätzlich nach neun und zwölf Monaten Röntgenbilder in zwei Ebenen angefertigt. Die Einstellungen des Röntgengeräts waren dabei 68-70 kV und 2.5 mA. Die Röntgenbilder der behandelten Tibiae nach der Schlachtung (drei, sechs bzw. zwölf Monate postoperativ) wurden mithilfe eines Faxitrons angefertigt. Ein Castverband, der von der Klaue bis proximal des Kniegelenks reichte, verblieb drei Monate auf dem operierten Bein und wurde monatlich gewechselt. Nach drei Monaten wurde den Schafen mit sechs und zwölf Monaten Überlebenszeitraum ein Castverband angelegt, der ebenfalls bis proximal über das Kniegelenk reichte, aber die Klaue nicht einschloss. Die Klaue wurde ausgespart, um eine erste Belastung des operierten Beines zu erreichen und somit das Knochenwachstum zu stimulieren. Nach einem weiteren Monat wurde der Castverband entfernt und ein straffer Verband für eine Woche angelegt, um ein Anschwellen des Beines zu verhindern.

Tabelle 3.7.1.1: Zeitpunkte Cast-Wechsel

Zeit	Cast/Verband
Zeitpunkt 0	OP
4 Wochen postoperativ	Castverband unten geschlossen
8 Wochen postoperativ	Castverband unten geschlossen
12 Wochen postoperativ	Castverband unten geschlossen
16 Wochen postoperativ	Castverband unten offen
17. Woche	straffer Verband

3.7.2 Biomechanik: Torsions-Tests

Um den Heilungserfolg quantitativ zu bestimmen und die Unterschiede der relativen Steifigkeit und Stärke der verschiedenen Behandlungsgruppen zu vergleichen, wurden biomechanische Tests durchgeführt. Die kontralaterale, nicht operierte Tibia diente als Vergleich für die operierte Tibia. Der Einfluss der Knochenstruktur der einzelnen Tiere auf das Gesamtergebnis wurde somit minimiert.

Zum Testen wurde der Knochen einem kontrollierten und monoton zunehmenden Torsionsmoment entlang der Längsachse der Tibia ausgesetzt. Der Versuch war mit dem Erreichen des Bruchpunktes abgeschlossen. Um eine möglichst ähnliche Ausrichtung der Proben in der Maschine zu gewähren, wurden Einbettungszyylinder entwickelt, die der Fixierung der Proben dienten. Der laterale Kondylus der Tibia wurde mit einer mechanischen Säge entfernt, damit das proximale Ende in den Zylinder passte. Um ein solides Halten der Proben im Polymethylmethacrylat (PMMA) zu gewähren, wurde das Weichteilgewebe vor der Einbettung gründlich von den Knochen entfernt. Beide Knochenenden der zu testenden Tibia wurden ungefähr 5 cm tief in einen Zylinder eingebettet. Es wurde darauf geachtet, dass der Abstand zwischen den eingebetteten Knochenenden 16 cm betrug und der Defekt möglichst mittig zwischen den Einbettungen zu liegen kam. Vor der Einbettung wurden die Knochen entsprechend mit einem Filzstift markiert. Zuerst wurde das proximale Ende der Tibia in den Einbettungszyylinder verbracht und mit vier Einstellschrauben fixiert. Dabei wurde

darauf geachtet, dass sich die Tibia möglichst mittig im Zylinder genau in der Vertikalen befand. Das PMMA wurde unter einer Abzugshaube gemischt und so in den proximalen Zylinder gefüllt, dass es das Knochenende bis zur angezeichneten Markierung und die Einstellschrauben einschloss. Nach Aushärtung des PMMA im ersten Zylinder konnte das distale Knochenende auf gleiche Weise eingebettet werden. Mittels eines vertikalen Verbindungselementes konnte das vertikale Ende genau positioniert und fixiert werden. Diese Art der Einbettung sollte eine gleichmässige Transmission des zugeführten Torsionsmoments gewährleisten. Nach der Aushärtung des PMMAs in beiden Zylindern wurde die eingebettete Tibia möglichst vorsichtig zur Test-Maschine transportiert.

Der distale Einbettungszyylinder wurde an der Basis der Testmaschine (ElectroPulsTM E10000, Instron, Norwood, USA) arretiert. Der Torsionsaktuator wurde dann so positioniert, dass vier daran angebrachte Bolzen in die dafür vorgesehenen Löcher im proximalen Einbettungszyylinder passten. Während des Versuches wurde eine konstante minimale Kraft von 20 N aufgebracht, um für konstante Randbedingungen zu sorgen. Sobald der Knochen mit den Einbettungszyindern korrekt positioniert war, wurde das vertikale Verbindungselement zwischen den Zylindern gelöst.

Zur Testung wurde das Torsionsantriebelement um fünf Grad pro Minute rotiert bis der Knochen brach. Die Rotationsrichtung hing dabei von der zu testenden Tibia ab: Rechte Tibiae wurden gegen den Uhrzeigersinn, linke Tibiae im Uhrzeigersinn gedreht. Das Torsionsmoment (Nm), die Rotation (Grad) und die axiale Kraft (N) wurden bei einer Messrate von 20 Hz gemessen, auf einem Computer gespeichert und gleichzeitig auf einem Monitor dargestellt. Fiel die Torsionsmomentkurve um mehr als 3 Nm ab, wurde dies als Bruch definiert. Nach dem durch die Rotation herbeigeführten Bruch wurde der Knochen um fünf weitere Grad gedreht. Dabei wurde das Verhalten des Knochens nach erfolgtem Bruch beobachtet.

Nach der Testung wurden die Knochen mit einer Handsäge aus den Einbettungszyindern gesägt und fotografiert. Für die spätere Orientierung wurde am proximalen Knochenende mit der Säge eine Kerbe gesetzt. Die ca. 8-12 cm langen Knochenstücke wurden in mit NaCl befeuchtete Tupfer gewickelt und in beschriftete Plastiktüten verbracht. Nach dem Transport zum Tierspital wurden die Knochen in Formalin eingelegt um sie zu fixieren.

3.7.3 Mikro Computer Tomographie (μ CT)

Bei einer Alkoholkonzentration von 70% wurden die Knochenstücke gruppenweise zur Firma b-cube nach Schlieren (16.19-16.54) bzw. zur Firma Scanco Medical nach Brüttisellen (16.01-16.18) gebracht, um die Untersuchungen im μ CT (μ CT 100, 70 kVp, 114 μ A, 200 ms) durchzuführen. Die gemessenen Daten wurden mit einem drei-dimensional abhängigen Gauss'schen Filter (begrenzte Filterstütze 1 Voxel, Filterweite $\sigma = 1.2$) geglättet, um das Rauschen zu unterdrücken. Die geglätteten Bilder wurden anschliessend segmentiert, um den Knochen vom Hintergrund zu trennen. Die technischen Daten wurden von Herrn Martin Stauber übernommen.

3.8 Probenauswertung

3.8.1 Röntgenaufnahmen

Alle Röntgenaufnahmen wurden in einer Sitzung mit Herrn Prof. Mark Flückiger und Frau Prof. Brigitte von Rechenberg ausgewertet, wobei beide Evaluatoren über die Zugehörigkeit der Bilder zu entsprechenden Gruppen nicht Bescheid wussten.

Dabei wurden die kortikale Kallusbildung am Cis- und Trans-Kortex, die Kallusdichte und die Remodellierung an den Defekträndern sowie das Vorliegen einer Fissur bewertet (siehe Tab. 3.8.1.1). Stimmten die Ergebnisse der bewertenden Personen oder die Kallusbildung am Cis- und Trans-Kortex nicht überein, so wurde jeweils der daraus gebildete Durchschnittswert zur Auswertung herangezogen.

Tab. 3.8.1.1: Scoring-System für die Auswertung der Röntgenbilder

Kortikale Kallusbildung Cis- bzw. Trans-Kortex	kein Kallus sichtbar	0
	Kallus reicht nicht in den Defekt hinein	1
	Kallus reicht zu <50% in den Defekt	2
	Kallus überbrückt den Defekt >50% und <100%	3
	Kallus überbrückt den Defekt vollständig	4
Kallusdichte relativ zur normalen kortikalen Dichte	Dichte einer Bindegewebsdichte	0
	<50% der normalen Dichte	1
	>50-100% der normalen Dichte	2
	>100% (Superimposition)	3
Remodellierung der Defektränder	keine	0
	positiv	1
	negativ (Resorption)	-1

3.8.2 Biomechanik: Torsions-Tests

Zur Datenanalyse wurden die erfassten Rohdaten in ein eigens für diese Versuche erstelltes Skript (Matlab R2011b, MathWorks, Natick, USA) übertragen und für die Auswertung in Tabellenform gebracht (Excel für Mac 2011, Microsoft, Redmond, USA). Die gemessenen Torsions-Werte [Nm] wurden als Maximum des gemessenen Dreh-Moments definiert und entsprechen somit dem Bruch-Moment. Die Torsions-Steifigkeit wurde aus der linearen Regressionskurve der anfänglich einwirkenden Belastung zwischen 0-10 Nm berechnet. Die Torsions-Steifigkeit [Nm/°] und das Bruch-Moment wurden für die behandelte und die unbehandelte kontralaterale Tibia gemessen.

3.8.3 Mikro Computer Tomographie (μCT)

Für die Messung der Knochen-Volumen-Dichte in verschiedenen Knochenbereichen wurden mehrere Masken kreiert. Die ersten beiden Masken (*shaft mask* und *cylgp mask*) wurden manuell gezeichnet und dienten als Basis für alle weiteren Masken:

- *Shaft mask*: Sie dient der Rekonstruktion des geschätzten ursprünglichen Umfangs des Knochens. Die Maske wurde dabei schrittweise vom proximalen Ende zum distalen Ende modelliert (Knochen proximal des Defekts, Knochen am Defekt, Knochen distal des Defekts). Sie beinhaltet somit nur das Volumen mit kalzifiziertem Gewebe, nicht aber die Markhöhle und besitzt die Form eines hohlen Zylinders.
- *Cylgp mask*: Diese Maske entspricht einem 5.4 mm hohen Zylinder im Defekt. Der Durchmesser des Zylinders ist dabei so gewählt, dass das gesamte neu gebildete Knochengewebe erfasst wird.
- *Gobjt mask*: Diese Maske entspricht dem Schnittvolumen, das sich aus *shaft mask* und *cylgp mask* ergibt.
- *Outco mask*: Diese Maske ergibt sich aus dem ganzen Volumen innerhalb der *shaft mask* und besitzt somit die Form eines Zylinders.
- *Outcx mask*: Diese Maske entspricht dem Schnittvolumen aus *outco mask* und *shaft mask*. Sie besitzt somit die Form eines 5.4 mm hohen Zylinders mit dem Durchmesser der *shaft mask*.

Folgende morphometrische Indizes wurden aus den Volumina, die mithilfe der verschiedenen Masken ermittelt wurden, berechnet:

- TV: Totales Volumen einer Maske [mm^3]
- BV: Knochen-Volumen innerhalb einer Maske [mm^3]
- BV/TV: Knochen-Volumen-Dichte [%]

Diese Informationen wurden ebenfalls durch Herrn Martin Stauber zur Verfügung gestellt.

3.8.4 Statistik

Für die statistische Analyse wurde das Programm SPSSStatistics für MacIntosh verwendet (Statistical package for the Social Sciences for Mac OS X, Version 20, SPSS Inc., Chicago, Illinois). Bei der Auswertung der Röntgen- und Biomechanik-Ergebnisse wurde für die Unterschiede zwischen den einzelnen Behandlungs- oder Überlebenszeitraum-Gruppen eine univariate, einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt. Um die Unterschiede der Röntgen-Ergebnisse innerhalb der einzelnen Gruppen über die verschiedenen Zeitpunkte hinweg zu untersuchen, wurde eine einfaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholung (ANOVA) durchgeführt. Die Post-Hoc-Tests nach Bonferroni und Scheffé wurden den ANOVA-Tests angeschlossen.

Bei der statistischen Analyse der μCT -Ergebnisse durch Herrn Martin Stauber (Firma Scanco Medical, Brüttisellen, Schweiz) wurde eine deskriptive Statistik durchgeführt. Die wichtigsten statistischen Ergebnisse wurden mit Boxplots grafisch dargestellt. Paarweise Wilcoxon-Rangsummen-Tests mit Bonferroni Korrektur wurden zur Feststellung signifikanter Unterschiede angewendet. Bei allen durchgeführten statistischen Tests lag das Signifikanzniveau bei 5% ($p = 0.05$).

4 Resultate

4.1 Operation

Die Operation und Anästhesie erfolgte bei fast allen Schafen ohne grössere Komplikationen. Lediglich Schaf Nummer 16.14 zeigte nach der Extubation einen Atemstillstand in der Aufwachphase der Narkose. Die Atmung setzte beim erneuten Versuch zu intubieren wieder ein. Bei den Schafen Nummer 16.07, 16.09, 16.12, 16.13, 16.24, 16.33 und 16.50 wurde von der Chirurgin eine erhöhte Blutungsneigung während des Eingriffes vermerkt. Bei den Schafen Nummer 16.22 und 16.43 wurde durch die Manipulation bzw. den Säge-Prozess ein Gefäss (A. tibialis anterior) eröffnet, welches zusätzlich ligiert werden musste. Bei Schaf Nummer 16.25 wurde das zweite Schraubenloch von oben doppelt gebohrt. Bei Schaf Nummer 16.27 war intraoperativ ein Hämatom medial an der rechten Hinterextremität ca. handbreit proximal des Tarsus zu sehen. Bei Schaf Nummer 16.34 wurde der Defekt aus technischen Gründen mit einem einfachen Sägeblatt gesetzt. Diese Komplikationen verhinderten jedoch nicht die Inklusion aller Schafe in der Studie. Sowohl die Applikation von Autograft als auch die von PTH1/2 in den Defektspace konnte problemlos durchgeführt werden (s. Abb. 8.2.1.1-8.2.1.3).

4.2 Postoperative Phase

Das Anlegen des Castverbandes, der Transport vom OP-Raum in den Stall und das Anbringen der Netze für die Aufhänge-Vorrichtung verlief bis auf eine Ausnahme bei allen Tieren problemlos. Schaf Nummer 16.51 wies eine verlängerte Aufwachphase auf und erlitt durch den permanenten Druck des Netzes auf die Halsgegend ein Stauungsödem am Kopf, das auch die Atmung erschwerte. Durch die manuelle Unterstützung des geschwächten Schafes verminderte sich der Druck auf die Halsgegend und das Tier erholte sich innerhalb weniger Stunden vollständig.

Der Wechsel der Castverbände und die zugehörige Röntgen-Kontrolle verliefen bei allen Tieren und zu allen Zeitpunkten ohne Komplikationen. Durch das lange Tragen eines Castverbandes entstanden bei einigen Tieren Druckstellen in der Kniefalte. Sie wurden gereinigt und mit Wundsalbe versorgt. Der Castverband wurde an dem proximalen Ende erneut mit Watte gepolstert, um weitere Druckstellen zu vermeiden. Zudem brachen einige Castverbände durch fehlerhaftes Anlegen des und die einwirkende Belastung. Die gebrochenen Castverbände wurden unmittelbar durch neue

ersetzt. Es mussten keine Tiere von der Studie ausgeschlossen werden und es wurden keine Reserve-Tiere verwendet.

4.3 Makroskopische Auswertung

4.3.1 Beurteilung des Defekts

Anhand einer fotografischen Dokumentation konnten die Defekte aller Gruppen nach der Schlachtung beurteilt und verglichen werden (s. Abb. 8.2.3.1-8.2.3.3). Alle Tiere zeigten, unabhängig von der Dauer des Überlebenszeitraums, eine leichtgradige bis deutlich ausgeprägte Kallus-Bildung auf der Platte. Je nach Grad der Kallus-Bildung gestaltete sich die Entfernung der Platte teilweise schwierig.

Die Defekte aller Tiere mit einem Überlebenszeitraum von zwölf Monaten waren makroskopisch durchwachsen und erschienen somit mechanisch stabil. Bei den Tieren mit drei und sechs Monaten Überlebenszeitraum war der gesetzte Knochendefekt bei knapp der Hälfte der Tiere makroskopisch nicht vollständig durchwachsen, wobei ausschliesslich die Tiere mit PTH1 bzw. PTH2 als eingesetztes Knochenersatzmaterial betroffen waren. So konnte man teilweise Einziehungen der Kortices oder eine bindegewebige Konsistenz des neu gebildeten Gewebes auf Defekthöhe beobachten, wodurch eine makroskopisch sichtbare Instabilität der betroffenen Knochen verursacht wurde. Bei Schaf Nummer 16.51 (drei Monate Überlebenszeitraum, PTH2) war zudem die Platte gebrochen.

Bei den Tieren mit zwölf Monaten Überlebenszeitraum und PTH1 bzw. PTH2 als eingesetztes Knochenersatzmaterial zeigte sich eine lokale, leicht- bis mittelgradige Umfangsvermehrung auf Höhe des Defekts. Die Versuchstiere mit drei bzw. sechs Monaten Überlebenszeitraum wiesen unabhängig vom eingesetzten Knochenersatzmaterial eine leichtgradige bis deutliche Umfangsvermehrung auf Höhe des Defekts auf. Dabei wurde deutlich, dass alle Knochen mit offensichtlicher Instabilität eine kaum sichtbare bis leichtgradige Umfangsvermehrung aufwiesen.

4.3.2 Röntgenaufnahmen

Anhand der während des Beobachtungszeitraums angefertigten Röntgenbilder und der postmortal erstellen Mikroradiographien wurde gruppenweise die makroskopische Auswertung der Röntgenbilder vorgenommen. Auf den postoperativen Aufnahmen wurden der korrekte Sitz der Platte und die korrekte Lage der Osteotomieenden zueinander bestätigt. Das teilweise eingesetzte Autograft als Knochenersatzmaterial

stellte sich dabei als geringgradig röntgendichte, „körnige“ Masse dar, die den Defektpalt (fast) vollständig ausfüllte, aber nicht über die Kortices hinaus reichte. Das bei den anderen Tieren verwendete Fibringel mit PTH war kaum röntgendicht und somit nicht oder kaum sichtbar.

Bei den Tieren mit zwölf Monaten Überlebenszeitraum und Autograft als eingesetztes Knochenersatzmaterial zeigte sich zu allen Zeitpunkten ein einheitliches Bild bei den Röntgenkontrollen. Bei der Röntgenuntersuchung einen Monat postoperativ war wenig Kallus an der Trans-Kortex sowie vereinzelt auch im Defektpalt sichtbar. Zwei Monate postoperativ zeigte sich eine leichte bis deutliche Kallusbildung an der Trans-Kortex und bei allen Tieren eine deutliche Kallusbildung im Defektpalt. Nach drei Monaten zeigten alle Tiere dieser Gruppe eine fortgeschrittene Knochenheilung im Vergleich zum Zeitpunkt zwei Monate postoperativ. Nach sechs bzw. neun Monaten war der Defekt bei allen Tieren radiologisch vollständig verheilt. Vereinzelt waren lediglich noch leichte Aufhellungen auf Defekt-Höhe sichtbar. Auf den postmortal angefertigten Mikroradiographien war zu erkennen, dass alle Platten und Schrauben *in situ* waren. Der Defekt war durchbaut, zeigte aber auf Höhe des gesetzten Defekts eine leicht wolkige Struktur (s. Abb. 8.2.2.1.1).

Bei den Tieren mit zwölf Monaten Überlebenszeitraum und PTH1 als eingesetztes Knochenersatzmaterial zeigten die Röntgenbilder nach einem Monat mehrheitlich keine Kallusbildung. Nach zwei Monaten konnten teilweise eine leichte Abrundung der Osteotomieenden sowie keine oder eine geringgradige Kallusbildung im Defektpalt beobachtet werden. Drei Monate postoperativ war wenig Kallus wolkiger Struktur im Defektpalt sichtbar. Auch nach sechs Monaten war der Defekt nicht gleichmässig durchbaut, dafür konnte aber Kallus auf der Platte, am kranialen und kaudalen Defektbereich beobachtet werden. Zum Zeitpunkt neun Monate postoperativ war der Defektpalt bei der Hälfte der Tiere vollständig mit Kallus wolkiger Struktur ausgefüllt. Die andere Hälfte zeigte nur eine Kallusbildung im medialen Teil des Defekts. Auf den postmortal angefertigten Mikroradiographien war zu erkennen, dass alle Platten und Schrauben *in situ* waren. Der Defekt war bei zwei Tieren dieser Gruppe durchbaut, zeigte aber auf Höhe des gesetzten Defekts eine leicht wolkige Struktur. Bei den restlichen Tieren war der Defekt nicht vollständig durchbaut und es zeigte sich teilweise eine deutliche Einziehung lateral am Defektpalt. Schaf Nummer 16.10 stellte eine Ausnahme dar. Hier konnte zu allen Zeitpunkten der Röntgen-Untersuchungen kein

deutliches Knochenwachstum nachgewiesen werden, wobei Platte und Schrauben *in situ* waren (s. Abb. 8.2.2.1.2).

In der Gruppe mit zwölf Monaten Überlebenszeitraum und PTH2 als eingesetztes Knochenersatzmaterial zeigte Schaf Nummer 16.14 auf den postoperativen Röntgenbildern, dass die proximale Knochenhälfte im Vergleich zur distalen Knochenhälfte leichtgradig nach kranial verschoben war. Der Heilungsverlauf innerhalb der ersten sechs Monate postoperativ ähnelte dem der Gruppe mit zwölf Monaten Überlebenszeitraum und PTH1 als eingesetztes Knochenersatzmaterial. Neun Monate postoperativ war der Defekt weiter durchbaut, wobei mehrheitlich noch leichte bis deutliche Aufhellungen im Defektspalt zu sehen waren. Auffallend bei mehreren Tieren dieser Gruppe war das gebildete Kallusgewebe entlang des Knochenschafts (auch ausserhalb des Defekts). Postmortal zeigte sich auf den mikroradiografischen Aufnahmen bei Schaf Nummer 16.13 eine leichte Lockerung der sechsten Schraube von proximal. Bei mehreren Tieren der Gruppe war wenig Kallusgewebe auf der Platte zu erkennen. Ansonsten präsentierte sich diese Gruppe ähnlich wie die Gruppe mit zwölf Monaten Überlebenszeitraum und PTH1 als verwendetes Knochenersatzmaterial (s. Abb. 8.2.2.1.3).

Die nächste Gruppe überlebte sechs Monate und erhielt Autograft als Knochenersatzmaterial. Bei Schaf Nummer 16.19 war auf der postoperativen Röntgenaufnahme eine leichte Verlagerung der proximalen Knochenhälfte nach kranial sichtbar. Nach einem Monat zeigte sich eine leichte bis deutliche Kallusbildung an der Trans-Kortex. Zwei Monate nach der Operation war der Defektspalt deutlich schmaler geworden und mit Kallus körniger Struktur durchsetzt. Auf den Röntgenbildern drei Monate postoperativ zeigte sich ein ähnliches Bild wie nach zwei Monaten, jedoch war der Heilungsprozess weiter fortgeschritten. Auf den postmortal angefertigten Mikroradiographien war zu erkennen, dass alle Platten und Schrauben *in situ* waren. Der Defekt war bei allen Tieren dieser Gruppe durchbaut, wobei das neu gebildete Knochengewebe teilweise noch nicht vollständig mineralisiert war (s. Abb. 8.2.2.2.1).

Bei den Tieren mit sechs Monaten Überlebenszeitraum und PTH1 als eingesetztes Knochenersatzmaterial zeigte sich einen Monat nach der Operation kein oder nur wenig Kallusgewebe an der Trans-Kortex und vereinzelt im Spalt. Nach zwei Monaten war eine Abrundung der Osteotomie-Enden sichtbar. Ansonsten stellte sich das Bild zu diesem Zeitpunkt unterschiedlich dar. So zeigte sich teilweise eine lokale partielle „Aufweitung“ des Spalts, teilweise eine leichte Kallusbildung im Defektspalt von

medial her oder aber ein schmaler gewordener Defektspace im Vergleich zum Zeitpunkt ein Monat postoperativ. Drei Monate nach der Operation war der Defektspace von medial her bis ca. zur Mitte des Defekts mit Kallus durchbaut, lateral war aber eine deutliche „Aufweitung“ des Spalts sichtbar. Postmortal zeigte sich auf den mikroradiografischen Aufnahmen bei allen Schafen dieser Gruppe, dass die Platte und die Schrauben *in situ* waren. Der Defekt war bei zwei Tieren dieser Gruppe fast vollständig durchbaut. Bei den anderen Tieren zeigten sich wenig Kallusgewebe und teilweise auch osteolytische Bereiche im Defektspace. Zudem war bei fast allen Tieren wenig Kallusgewebe auf der Platte erkennbar (s. Abb. 8.2.2.2.2).

Das Bild der Gruppe mit sechs Monaten Überlebenszeitraum und PTH2 als Knochenersatzmaterial präsentierte sich einen Monat postoperativ recht unterschiedlich. So zeigte sich keine oder nur eine geringgradige Kallusbildung an der Trans-Kortex und kein bis viel Kallusgewebe im Defektspace. Zum Zeitpunkt zwei Monate postoperativ füllte das Kallusgewebe den Defektspace von medial her zu ca. zwei Dritteln aus. Es zeigte sich ein insgesamt schmaler gewordener Defektspace. Zudem war Kallusgewebe kaudal am Spalt, vereinzelt auch kranial davon, zu sehen. Drei Monate nach der Operation präsentierte sich ein ähnliches Bild wie zum Zeitpunkt zuvor, wobei einzelne Tiere keinen, andere Tiere hingegen einen leichten bis deutlichen Fortschritt beim Heilungsprozess zeigten. Postmortal zeigte sich auf den mikroradiografischen Aufnahmen bei allen Schafen dieser Gruppe, dass die Platten und die Schrauben *in situ* waren. Bei zwei Tieren war der segmentale Defekt auf den postmortalen Mikroradiographien noch deutlich sichtbar. Bei den restlichen Tieren war der Defekt, bis auf eine leichte Einziehung lateral, durchbaut (s. Abb. 8.2.2.2.3).

In der Gruppe mit drei Monaten Überlebenszeitraum und Autograft als eingesetztes Knochenersatzmaterial waren recht unterschiedliche Ergebnisse zu sehen. So zeigte sich einen Monat nach der Operation bei einem Teil der Tiere eine leichte bis deutliche Kallusbildung an der Trans-Kortex und im Defektspace, beim Rest der Tiere war aber kaum Kallusgewebe zu sehen. Auf den mediolateralen Aufnahmen war bei ca. der Hälfte der Tiere eine leichte Kallusbildung kranial und kaudal am Defektspace erkennbar. Zwei Monate postoperativ war die Heilung bei der Mehrheit der Tiere deutlich fortgeschritten, aber noch nicht vollständig abgeschlossen. Zudem konnte auf den mediolateralen Aufnahmen v.a. kaudal am Defektspace eine deutliche Kallusbildung beobachtet werden. Auf den postmortal angefertigten Mikroradiographien war zu erkennen, dass alle Platten und Schrauben *in situ* waren. Der Defekt war bei zwei von

sechs Tieren dieser Gruppe durchbaut. Bei den anderen Tieren waren Einziehungen am Cis- oder Trans-Kortex oder nicht durchbaute Bereiche im lateralen Drittel des Defektspaltes zu erkennen (s. Abb. 8.2.2.3.1).

Die Tiere mit drei Monaten Überlebenszeitraum und PTH1 als Knochenersatzmaterial lieferten ein recht einheitliches Bild. So war ein Monat postoperativ kein bis wenig Kallus im Spalt bzw. an der Trans-Kortex zu verzeichnen. Nach zwei Monaten war mehrheitlich wenig Kallusgewebe im Spalt, aber kein bis viel Kallusgewebe an der Trans-Kortex zu sehen. Auch in dieser Gruppe zeigte sich auf den mediolateralen Röntgenbildern v.a. kaudal am Spalt eine deutliche Kallusbildung. Postmortal war auf den mikroradiografischen Aufnahmen bei allen Schafen dieser Gruppe zu erkennen, dass die Platten und die Schrauben *in situ* waren. Bei der Hälfte der Tiere war der segmentale Defekt auf den postmortalen Mikroradiographien mit Kallus körniger bzw. wolkiger Struktur fast vollständig durchbaut. Die Defekte der anderen Tiere dieser Gruppe waren nur stellenweise durchbaut, bei zwei Tieren war der segmental gesetzte Defektspalt noch zu erkennen (s. Abb. 8.2.2.3.2).

Auch bei den Tieren mit drei Monaten Überlebenszeitraum und PTH2 als eingesetztes Knochenersatzmaterial war ein recht homogenes Resultat zu erkennen. Ein Monat nach der Operation war kein bis wenig Kallusgewebe an der Trans-Kortex und kein bis sehr wenig Kallusgewebe im Defektspalt sichtbar. Auch auf den mediolateralen Aufnahmen zeigte sich kaum Kallusgewebe am Defektspalt. Nach zwei Monaten war der Defektspalt bei wenigen Tieren etwas schmaler geworden als einen Monat postoperativ. Mehrheitlich war aber nur wenig Kallusgewebe im Defektspalt und an der Trans-Kortex sichtbar. Auch bei dieser Gruppe zeigte sich zu diesem Zeitpunkt v.a. kaudal am Defektspalt viel Kallusgewebe. Auf den postmortal angefertigten Mikroradiographien war bei Schaf Nummer 16.51 zu erkennen, dass die Platte auf Höhe des Defekts gebrochen war. Ebenfalls zeigte sich hier, dass kein Kallusgewebe, sondern osteolytische Bereiche vorhanden waren. Auch bei den anderen Tieren dieser Gruppe war der Defekt nicht vollständig durchbaut und nur wenig Kallus im medialen Bereich des Spalts oder an der Cis-Kortex zu sehen (s. Abb. 8.2.2.3.3).

4.4 Statistische Auswertung der Röntgenaufnahmen

4.4.1 Kallus-Dichte

Die Gruppe Autograft wies unmittelbar postoperativ sowie ein und drei Monate postoperativ im Vergleich zu den Gruppen PTH1 und PTH2 eine signifikant höhere Kallus-Dichte. Zum Zeitpunkt zwei Monate postoperativ zeigten die mit Autograft behandelten Tiere einen signifikant höheren Wert als die Gruppe PTH1. Sechs Monate postoperativ bestand bei der Kallus-Dichte kein Unterschied zwischen den unterschiedlichen Behandlungs-Gruppen (Autograft, PTH1, PTH2). Die durchschnittliche Höhe der Werte zum Zeitpunkt sechs Monate befand sich dabei auf einem mittleren Niveau in Bezug auf den maximalen Scoring-Wert. Die Kallus-Dichte aller drei Gruppen wies zu den Zeitpunkten neun und zwölf Monate postoperativ ebenfalls keine signifikanten Unterschiede auf. Die Werte der unterschiedlichen Behandlungs-Gruppen waren zu den Zeitpunkten neun und zwölf Monate annähernd gleich hoch. Sie erreichten dabei nur rund zwei Drittel des maximal möglichen Scoring-Wertes (s. Tab. 8.1.1.1).

Innerhalb der Gruppe Autograft zeigte sich ein bis drei Monate postoperativ ein ansteigender Verlauf der Kallus-Dichte. Die mit Autograft behandelten Tiere, die sechs Monate überlebten, zeigten zum Zeitpunkt der Schlachtung eine leicht geringere Kallus-Dichte als zum Zeitpunkt drei Monate postoperativ. Ähnlich verhielt es sich bei den Tieren der Gruppe Autograft mit zwölf Monaten Überlebenszeitraum. Sie wiesen zum Zeitpunkt der Schlachtung ebenfalls eine geringere Kallus-Dichte als zum Zeitpunkt neun Monate postoperativ auf.

Bei den Tieren der Gruppe PTH1 gab es ein bis drei Monate postoperativ keine bzw. nur eine leichte Zunahme der Kallus-Dichte. Jedoch zeigte sich sechs bis zwölf Monate postoperativ bei allen Tieren innerhalb der Gruppe PTH1 einen kontinuierlichen Anstieg derselben.

Die Tiere der Gruppe PTH2 wiesen innerhalb der ersten sechs Monate postoperativ mehrheitlich eine kontinuierliche Zunahme der Kallus-Dichte auf. Zu den Zeitpunkten neun und zwölf Monate postoperativ war die Kallus-Dichte geringgradig niedriger als zum Zeitpunkt sechs Monate postoperativ (s. Tab. 8.1.1.2).

4.4.2 Kortikale Kallus-Bildung in medio-lateraler (m-l) und anterior-posteriorer (a-p) Projektion

Die m-l sichtbare Kallus-Bildung der Gruppe Autograft war ein, zwei, drei und sechs Monate postoperativ signifikant höher als bei den Gruppen PTH1 und PTH2. Die Tiere der Gruppe Autograft zeigten bereits nach einem Monat einen Mittelwert von 2.36 ± 0.98 und erreichten mit 3.89 nach drei Monaten beinahe den maximalen Scoring-Wert. Die m-l Kallus-Bildung der Gruppe PTH1 und PTH2 unterschied sich zum Zeitpunkt sechs Monate postoperativ kaum voneinander. Auch die kortikale Kallus-Bildung in m-l Projektion war neun und zwölf Monate postoperativ gleich und es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen. Die Gruppen Autograft und PTH2 erreichten zu diesen Zeitpunkten den maximalen Scoring-Wert, was bedeutet, dass der Kallus den Defekt vollständig überbrückt.

Das Niveau der Werte und der Verlauf der Kallus-Bildung in der a-p Projektion stimmten mit den Ergebnissen der kortikalen Kallus-Bildung in der medio-lateralen Projektion weitgehend überein. Es zeigte sich lediglich, dass die Kallus-Bildung der Gruppen Autograft und PTH1 in der a-p Projektion leicht niedriger war. Die Kallus-Bildung der Gruppe Autograft zeigte auch in dieser Projektion die vollständige Überbrückung des Defektes (s. Tab. 8.1.1.3).

Die a-p Kallus-Bildung innerhalb der Gruppe Autograft stieg bis zum Zeitpunkt drei Monate postoperativ kontinuierlich an. Bereits nach sechs Monaten zeigten die Tiere, die mit Autograft behandelt wurden, einen vollständig überbrückten Defekt.

In der m-l Projektion stellte sich ein ähnlicher Verlauf dar. Die Tiere der Gruppe Autograft wiesen in dieser Projektion röntgenologisch von Beginn an eine etwas höhere Kallus-Bildung auf und erreichten überwiegend bereits nach drei Monaten den maximalen Scoring-Wert.

Die Tiere der Gruppe PTH1 zeigten in der Zeitspanne ein bis drei Monate postoperativ eine niedrige bis mittlere Kallus-Bildung in der a-p Projektion. Sechs bis zwölf Wochen postoperativ stiegen die Werte kontinuierlich an, wobei die vollständige Überbrückung des Defektes auch nach zwölf Monaten nicht vollständig erreicht wurde.

Die Tiere dieser Gruppe zeigten auch in der m-l Projektion einen ähnlichen Verlauf. Die Kallus-Bildung in dieser Projektion war zwei bis drei Monate postoperativ leicht niedriger als in der a-p Projektion, erreichte aber nach zwölf Monaten beinahe die vollständige Überbrückung des Defektes.

Die Tiere, die mit PTH2 behandelt wurden, wiesen in der a-p Projektion ein bis zwölf Monate postoperativ eine kontinuierlich zunehmende Kallus-Bildung auf, die nach zwölf Monaten leicht unter dem maximalen Scoring-Wert lag.

In der medio-lateralen Projektion verhielt es sich sehr ähnlich. Der einzige Unterschied bestand darin, dass eine vollständige Überbrückung des Defektes zu den Zeitpunkten neun und zwölf Monate postoperativ sichtbar war (s. Tab. 8.1.1.4).

4.4.3 Remodellierung der Defektränder

Die Remodellierungs-Aktivität der Gruppe Autograft war ein Monat postoperativ signifikant höher als die der Gruppen PTH1 und PTH2. Zu allen weiteren Zeitpunkten bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Behandlungs-Gruppen. Die Gruppen Autograft und PTH2 erreichten bereits zwei Monate postoperativ eine vollständige Remodellierung der Defektränder. Die Remodellierungs-Aktivität der Gruppe PTH1 zeigte ein bis sechs Monate postoperativ eine leicht negative Tendenz, erreichte neun und zwölf Monate postoperativ zwar keine vollständige Remodellierung der Defektränder, aber eine recht hohe Remodellierungs-Aktivität (s. Tab. 8.1.1.5).

Innerhalb der Gruppe Autograft zeigten die Tiere ein Monat postoperativ eine mittlere bis hohe Remodellierungs-Aktivität. Zu allen weiteren Zeitpunkten wiesen die Tiere dieser Gruppe eine vollständige Remodellierung der Defektränder auf.

In der Gruppe PTH1 wurde ein Monat postoperativ keine bzw. eine mittlere Remodellierungs-Aktivität gesehen. In der Zeitspanne zwei bis drei Monate postoperativ zeigten sich verschiedene Verläufe: Ein Drittel der Tiere erreichte eine vollständige Remodellierung und blieb auf diesem Niveau, ein Drittel erzielte zunächst eine vollständige Remodellierung, die dann aber wieder etwas abnahm und ein Drittel verzeichnete bei einer mittleren Remodellierungs-Aktivität einen schwankenden Verlauf. Sechs Monate postoperativ zeigten alle Tiere eine mittlere bis hohe Remodellierungs-Aktivität, die zum Zeitpunkt neun und zwölf Monate noch etwas zunahm, aber eine vollständige Remodellierung nicht erreichte.

In der Gruppe PTH2 verhielt es sich ähnlich wie in der Gruppe Autograft. Die Tiere dieser Gruppe zeigten einen Monat postoperativ eine niedrige bis mittlere Remodellierungs-Aktivität, jedoch zu allen weiteren Zeitpunkten eine vollständige Remodellierung der Defektränder (s. Tab. 8.1.1.6).

4.5 Statistische Auswertung der Biomechanik

Bei 43 aus 54 Schafen konnten die behandelten Tibiae getestet werden. Die Messung der unbehandelten kontralateralen Tibia konnte bei allen Tieren durchgeführt werden. Bei den durch die Torsionstests provozierten Frakturen der behandelten Tibiae handelte es sich um Quer-, Schräg- und Spiralfrakturen (s. Abb. 8.2.3.1-8.2.3.3).

Die behandelten Tibiae der Tiere 16.25, 16.30, 16.32, 16.44, 16.46, 16.47, 16.48, 16.50, 16.51, 16.52 und 16.53 konnten nicht getestet werden, da die Knochen nicht geheilt und somit zu instabil für die Einbettung und Messung waren. Bei der Torsions-Messung der behandelten Tibiae von 16.28, 16.29 und 16.54 konnte die Steifigkeit nicht berechnet werden, da die Bruchmomente zu niedrig waren und kein linearer Abschnitt in der Belastungs-Kurve vorlag.

Die Tiere mit drei Monaten Überlebenszeitraum wurden bei der statistischen Analyse nicht berücksichtigt, da sich durch den Ausschluss von neun aus 18 Tieren eine zu geringe Probenanzahl ergeben hat. Die folgenden Resultate beziehen sich somit auf die Schafe mit sechs und zwölf Monaten Überlebenszeitraum (s. Tab. 8.1.2.1).

Bei der statistischen Analyse der behandelten Tibiae (aller Behandlungsgruppen unabhängig vom Überlebenszeitraum) wies die Gruppe PTH2 das höchste Bruchmoment auf (51.59 ± 16.97 Nm). Die Tibiae der Gruppe Autograft und PTH1 ergaben Mittelwerte von 50.48 ± 12.92 Nm bzw. 32.93 ± 19.41 Nm. Ein signifikanter Unterschied bestand zwischen den gemessenen Bruchmomenten der Gruppen PTH1 und PTH2 beim Post hoc-Test nach Scheffé ($p = 0.048$).

Bei der Messung der Torsionssteifigkeit zeigte die Gruppe Autograft die höchsten Werte (4.10 ± 1.14 Nm/°), gefolgt von der Gruppe PTH2 (3.97 ± 1.35 Nm/°) und der Gruppe PTH1 (3.59 ± 1.10 Nm/°). Es lag kein signifikanter Unterschied vor (s. Tab. 8.1.2.2).

Anschliessend wurde ein Vergleich der Schafe mit sechs bzw. zwölf Monaten Überlebenszeitraum zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen angestellt (s. Tab. 8.1.2.3). Dabei zeigte die Gruppe PTH2 beim Vergleich der Tiere mit sechs Monaten Überlebenszeitraum das höchste Bruchmoment (48.62 ± 23.15 Nm), gefolgt von der Gruppe Autograft (43.13 ± 12.12 Nm) und der Gruppe PTH1 (21.00 ± 18.09 Nm). Anders verhielt es sich beim Vergleich der Tiere mit zwölf Monaten Überlebenszeitraum. Hierbei wies die Gruppe Autograft das höchste Bruchmoment auf (57.83 ± 9.51 Nm). Die Gruppen PTH2 und PTH1 folgten mit einem Mittelwert von

54.07 \pm 11.44 Nm bzw. 40.89 \pm 17.08 Nm. Es lag kein signifikanter Unterschied zwischen den unterschiedlichen Behandlungsgruppen vor.

Beim Vergleich der erreichten Steifigkeit zeigte sich ein ähnliches Bild wie bei den Werten des maximalen Drehmomentes. Innerhalb der Gruppe mit sechs Monaten Überlebenszeitraum wies die Behandlungsgruppe PTH2 die höchste Steifigkeit auf (3.57 \pm 1.69 Nm/°), dicht gefolgt von Gruppe PTH1 (3.50 \pm 0.71 Nm/°) und Gruppe Autograft (3.37 \pm 1.07 Nm/°). Bei den Tieren mit zwölf Monaten Überlebenszeitraum führte erneut die Gruppe Autograft mit einem Mittelwert von 4.82 \pm 0.69 Nm/° das Feld an, gefolgt von der Gruppe PTH2 (4.30 \pm 1.04 Nm/°) und PTH1 (3.62 \pm 1.26 Nm/°). Auch hier lag kein signifikanter Unterschied zwischen den unterschiedlichen Behandlungsgruppen vor.

Beim Vergleich der behandelten und unbehandelten Tibiae innerhalb der einzelnen Behandlungsgruppen zeigten die unbehandelten kontralateralen Tibiae der Gruppen Autograft, PTH1 und PTH2 signifikant höhere Bruchmomente als die behandelten Tibiae. Bei den unbehandelten Tibiae der Gruppe PTH2 stellte sich eine signifikant höhere Steifigkeit als bei den behandelten Tibiae dieser Gruppe dar. Bei den Gruppen Autograft und PTH1 ergab die gemessene Torsionssteifigkeit keine signifikanten Unterschiede zwischen den behandelten und unbehandelten Tibiae (s. Tab. 8.1.2.4).

4.6 Statistische Auswertung der Mikro Computer Tomographie (μ CT)

Die μ CT-Resultate wurden mit freundlicher Genehmigung von Martin Stauber übernommen. Die Knochen der Schafe mit zwölf Monaten Überlebenszeitraum waren nach den biomechanischen Tests stark frakturiert und einige Knochen wiesen Absplitterungen am Schaft auf. Aus diesem Grund ergaben sich bei den Tieren mit zwölf Monaten Überlebenszeitraum etwas geringere Volumina im Vergleich zu den Tieren mit drei und sechs Monaten Überlebenszeitraum.

Beim Index BV/TV_{outcx} (Knochen-Volumen-Dichte der *outcx mask*) zeigten die Tiere mit zwölf Monaten Überlebenszeitraum, die mit PTH1 und PTH2 behandelt wurden, höhere Werte als die Tiere aller anderen Gruppen. Beim Index BV/TV_{gobjt} (Knochen-Volumen-Dichte der *gobjt mask*) waren die Mediane der Tiere mit zwölf Monaten Überlebenszeitraum aller Behandlungsgruppen höher als bei den Tieren mit drei und sechs Monaten Überlebenszeitraum. Bei den Indizes BV_{cylgp}/TV_{gobjt} und BV_{cylgp}/TV_{outcx} zeigten die Tiere mit zwölf Monaten Überlebenszeitraum, die mit PTH1 und PTH2 behandelt wurden, höhere Werte als die Tiere mit drei und sechs Monaten

Überlebenszeitraum bzw. als die Tiere, die mit Autograft behandelt wurden (s. Tab. 8.1.3.1 und Abb. 8.2.4.1-8.2.4.4). Bei der Analyse der Werte lagen keine statistisch signifikanten Unterschiede vor.

4.7 Zusammenfassung aller Resultate

Rund die Hälfte der Tiere der Gruppen PTH1 und PTH2 zeigte bei der makroskopischen Beurteilung der Defekte, im Gegensatz zur Gruppe Autograft, eine Instabilität der behandelten Tibia bei den frühen Zeitpunkten von drei und sechs Monaten postoperativ. Zwölf Monate postoperativ waren die Defekte aller Gruppen durchwachsen und erwiesen sich makroskopisch als stabil. Bei der makroskopischen Beurteilung der Röntgenaufnahmen zeigte die Gruppe Autograft zu allen Zeitpunkten einen besseren und homogenen Heilungsverlauf als die Gruppen PTH1 und PTH2.

Die statistische Auswertung des Radiologie-Scorings ergab in Bezug auf die Kallus-Dichte, die kortikale Kallus-Bildung und die Remodellierungs-Aktivität zu den frühen Zeitpunkten postoperativ bessere Ergebnisse für die Gruppe Autograft, wobei neun und zwölf Monate postoperativ kein signifikanter Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen bestand. Trotzdem schnitt die Gruppe PTH2 bei allen oben genannten Parametern besser ab als die Gruppe PTH1.

Alle Tiere, die bei der makroskopischen Beurteilung eine deutliche Instabilität der Tibia aufwiesen, wurden von den biomechanischen Tests ausgeschlossen. Somit ergab sich eine reduzierte Probenanzahl der Tiere mit sechs Monaten Überlebenszeitraum und PTH1/2 als eingesetzter Knochenersatzstoff und der Ausschluss aller Tiere mit drei Monaten Überlebenszeitraum. Beim Vergleich der Behandlungsgruppen mit einem Überlebenszeitraum von zwölf Monaten erreichte die Gruppe Autograft bei der Torsions- und Steifigkeit-Messung die höchsten Werte. Die Gruppe PTH2 wies dabei bessere Ergebnisse als die Gruppe PTH1 auf, wobei kein signifikanter Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen bestand.

Die Auswertung der μ CT-Resultate lieferte keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen.

5 Diskussion

5.1 Ziel der Studie

In der vorliegenden Studie sollte die Eignung des chemisch veränderten, verkürzten und an eine Fibrinmatrix gebundenen humanen Parathormons (TGplPTH₁₋₃₄) als Knochenersatzstoff in einem Tibia-Defekt-Modell bei Schafen getestet werden. TGplPTH₁₋₃₄ lag dabei in zwei verschiedenen Dosen vor und autologes Autograft diente als positive Kontrollgruppe.

Wie zu erwarten, lieferte das eingesetzte Autograft der Kontrollgruppe überzeugende Ergebnisse in der makroskopischen, radiologischen und biomechanischen Auswertung und bestätigte somit, wie auch schon in anderen Studien belegt wurde, seine osteoinduktiven, -konduktiven und -genetischen Eigenschaften [3,84].

Bei der radiologischen Auswertung lieferte die Gruppe Autograft in der frühen Phase der Heilung bessere Ergebnisse als die Gruppen PTH1 und PTH2. Neun bzw. zwölf Monate postoperativ zeigten aber auch die mit TGplPTH₁₋₃₄ behandelten Tiere gute Ergebnisse in Bezug auf die Kallus-Dichte, die kortikale Kallus-Bildung und die Remodellierung der Defektränder, denn es bestand kein signifikanter Unterschied mehr zwischen den Behandlungsgruppen. Dabei erzielte die Gruppe PTH2, die mit der höheren TGplPTH₁₋₃₄-Dosierung behandelt wurde, bessere Ergebnisse als die Gruppe PTH1 mit der niedrigeren Dosierung. Die makroskopische Auswertung (Fotografien/Röntgenbilder) stimmte mit den statistischen Ergebnissen der Röntgenuntersuchung weitgehend überein. Bei der Auswertung der biomechanischen Tests zeigte die Gruppe Autograft beim Vergleich der Behandlungsgruppen zwölf Monate postoperativ die höchsten Werte für Steifigkeit und Torsion. Aber auch hier bewies die Gruppe PTH2 gute Eigenschaften in Bezug auf die Knochenheilung, da die erreichten Torsions-Werte nur knapp hinter denen der Gruppe Autograft lagen.

Das Ziel, den Heilungsverlauf und die Knochenqualität aller Behandlungsgruppen nach dem gesetzten Knochendefekt zu beurteilen und zu vergleichen, wurde in der vorliegenden Studie erfüllt. Dabei lieferten v.a. die relativ hohe Anzahl der Versuchstiere und die gewählten Überlebenszeiträume (frühe und späte Phase der Knochenheilung) einen breiten Datenpool für die Auswertung.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass die Gruppe PTH1 v.a. in der frühen Phase der Frakturheilung keine wirklich zufriedenstellenden Ergebnisse zeigte, jedoch brachten die Tiere der Gruppe PTH2, die mit einer TGplPTH₁₋₃₄-Dosierung von

1.0 mg/ml behandelt wurden, zu den späten Zeitpunkten der Frakturheilung ähnliche Ergebnisse wie die Gruppe Autograft hervor. Somit kann TGplPTH₁₋₃₄, gekoppelt an eine Fibrinmatrix, zwar noch nicht als voll äquivalenter Ersatz für Autograft bei Knochendefekten eingesetzt werden, sollte aber als Ausgangspunkt für weitere Studien mit Knochenersatz und/oder Beschleunigung der Knochenheilung dienen.

5.2 Wahl des Versuchsmodells

Versuchsstudien an Tiermodellen sind erforderlich, um die Frakturheilung von Knochen zu untersuchen und um zukünftig bessere Therapiemöglichkeiten für die klinische Anwendung beim Menschen zur Verfügung zu haben.

In Bezug auf die durchgeführten biomechanischen Tests erwies sich das Schafmodell als passend. In früheren Studien konnte bereits gezeigt werden, dass sowohl die Dehnungsrate von Menschen und Schafen annähernd vergleichbar sind [85] als auch die Knochendeformation unter verschiedenen Spezies, wie z.B. Mensch, Schaf und Schwein, konstant ist [75,86].

Die Wahl eines Tibia-Segmentdefekt-Modells an adulten weiblichen Schafen hat sich in der vorliegenden Studie als geeignet erwiesen. Die radiologische und biomechanische Untersuchung des Heilungsverlaufs und -erfolges an diesem Modell wurde bereits in einer Vorgängerstudie mit einer Defektgrösse von 1 cm untersucht [87]. Da diese Vorgängerstudie bei einigen Behandlungsgruppen zum Zeitpunkt der Schlachtung (drei Monate postoperativ) aber nur eine inkomplette Heilung zeigte, wurden die Überlebenszeiträume in der vorliegenden Studie neben drei Monaten zusätzlich auch auf sechs und zwölf Monate angesetzt. Mithilfe des vorliegenden Versuchsmodells konnten somit die Handhabung des Materials, eventuell vorkommende Komplikationen, Heilungsverlauf und Heilungserfolg mithilfe radiologischer und biomechanischer Untersuchungen auch in einer längeren Untersuchungsperiode überprüft werden.

Der einzige Unterschied bei der Auswahl des Versuchsmodells besteht in der Änderung von zwei Parametern im Vergleich zur Vorgängerstudie. Durch die kleinere Defektgrösse von 0.5 cm gegenüber 1 cm in der früheren Studie und die längeren Überlebenszeiträume lassen sich die Ergebnisse beider Studien nur eingeschränkt vergleichen.

5.3 Probengewinnung und –aufbereitung

Das Präparieren der Knochen nach der Schlachtung wurde bei allen Tibiae identisch durchgeführt und erfolgte problemlos. Bei einigen Schafen wurde dabei eine stärkere Verwachsung des Bindegewebes mit dem Knochen beobachtet als bei den restlichen Schafen, wobei kein Zusammenhang mit einer bestimmten Behandlungsmethode festgestellt werden konnte.

Nach Durchführung der Mikroradiographie erfolgte die Entfernung des Kallus auf und entlang der Platte, um die Schrauben zu lösen und die Platte schliesslich entfernen zu können. Da der Kallus bestimmter Gruppen (v.a. 12 Monats-Tiere mit Autograft- bzw. PTH2-Behandlung) stark ausgebildet und sehr fest war, gestaltete sich seine Entfernung mittels Hammer, Meissel, oszillierender Säge und Fräse (um die Kallus-Rückstände aus den Schraubenköpfen zu entfernen) teils sehr schwierig. Trotz der erforderlichen Manipulationen am Knochen wurde darauf geachtet, dass die Knochen insgesamt nicht beschädigt wurden. Eine Schwächung der behandelten Knochen durch die Manipulation kann somit weitgehend ausgeschlossen werden.

Der Transport zum Institut für Biomechanik (ETH Zürich) erfolgte problemlos. Nach den Torsionstests wurden die Knochen mithilfe einer handelsüblichen Säge manuell aus den Einbettungszyklindern gesägt. Dabei wurde versucht, den Knochen nicht weiter zu schädigen, um die Ergebnisse der Untersuchungen im μ CT nicht negativ zu beeinflussen. Trotz grösster Vorsicht und zusätzlicher manueller Unterstützung des frakturierten Knochens während des Sägeprozesses konnte nicht verhindert werden, dass bei manchen Tibiae Knochenstücke absplitterten.

Eine mechanische Säge wäre im Hinblick auf dieses Problem wünschenswert gewesen und hätte sicherlich einen reibungsloseren Sägeprozess ermöglicht.

Nach den biomechanischen Tests wurden die zugeschnittenen Knochenstücke in eine aufsteigende Alkoholreihe eingelegt und beim Erreichen der 70%igen Alkohol-Konzentration nach Schlieren bzw. Brüttisellen zur μ CT-Untersuchung transportiert. Der Transport verlief ebenfalls problemlos.

5.4 Makroskopische Auswertung

5.4.1 Beurteilung des Defekts

Die gesetzten Defekte wurden postmortal mittels Fotografien dokumentiert und anschliessend beurteilt. Die Kallus-Bildung auf der Platte war bei fast allen Tieren vorhanden, jedoch unterschiedlich stark ausgeprägt, wobei kein Zusammenhang zwischen Überlebensdauer bzw. eingesetztem Knochenersatzmaterial und Grad der Kallus-Bildung auf der Platte festgestellt werden konnte. Bei den Tieren mit drei und sechs Monaten Überlebenszeitraum und PTH1/2 als Knochenersatzmaterial war (im Gegensatz zu den Tieren mit Autograft als Knochenersatzmaterial) postmortal bei knapp der Hälfte der Tiere zu sehen, dass der Defekt makroskopisch nicht vollständig verheilt war. Die Gruppen mit zwölf Monaten Überlebenszeitraum wiesen bei der makroskopischen Beurteilung nach der Schlachtung, unabhängig vom eingesetzten Knochenersatzmaterial, keine deutlichen Unterschiede mehr auf. Dadurch lässt sich vermuten, dass Autograft vor allem in den ersten Monaten der Heilung bessere Ergebnisse als das getestete Knochenersatzmaterial liefert. Das Fibringel mit PTH benötigte somit scheinbar eine längere Phase der Heilung, um makroskopisch ähnliche Ergebnisse wie Autograft zu erzielen. Eine Ausnahme stellte Schaf Nummer 16.51 mit der gebrochenen Platte dar. In diesem Fall ist das Ausbleiben der Heilung durch die fehlende Fixierung der beiden Knochenhälften und der daraus resultierenden Instabilität erklärbar.

Die Tiere mit drei bzw. sechs Monaten Überlebenszeitraum wiesen unabhängig vom eingesetzten Knochenersatzmaterial eine gering- bis hochgradige Umfangsvermehrung auf Höhe des Defekts auf. Bei den Gruppen, die zwölf Monate überlebten, war nur bei den Tieren mit PTH1/2 eine gering- bis mittelgradige Umfangsvermehrung zu erkennen. Das könnte ein Hinweis darauf sein, dass der Grad der Umfangsvermehrung einerseits mit dem Zeitpunkt der Heilung und andererseits mit der Wahl des Knochenersatzmaterials zu tun hat. Demnach würde das Vorliegen einer Umfangsvermehrung bedeuten, dass sich der Knochen noch im Heilungsprozess befindet. Grosse Umfangsvermehrungen lieferten in der vorliegenden Studie mehr Stabilität und können durch viel mehr gebildetes Kallusgewebe im Kortexbereich erklärt werden.

5.4.2 Röntgenaufnahmen

Postoperativ wurden Röntgenbilder in zwei Ebenen angefertigt um das Ergebnis von Osteotomie und Osteosynthese zu überprüfen. Dabei wurde auf die Parallelität der osteotomierten Knochenenden zueinander sowie auf den korrekten Sitz der Platte und Schrauben geachtet. Zudem wurde beurteilt, ob der kraniale bzw. kaudale Knochenrand der proximalen und distalen Knochenstücke eine Gerade bildete oder ob eine Verlagerung zueinander vorlag. Die Erfahrung aus bisherigen Studien mit derselben Operationstechnik hat gezeigt, dass eine tiefe Verankerung der Schraubenenden in der Trans-Kortex erforderlich ist um eine stabile Osteosynthese bei Schafen zu erzielen. Die Schafe der positiven Kontroll-Gruppe wiesen röntgenologisch durch die Struktur des Autografts bereits unmittelbar postoperativ eine kalzifizierte Verschattung im Defektspace auf. Bei den Schafen, die mit PTH1 bzw. PTH2 behandelt wurden, war auf den Röntgenbildern aufgrund der fehlenden Röntgendichte kein Knochenersatzmaterial im Defektspace darstellbar. Die Defektüberbrückung mit Knochen wurde erst im weiteren Heilungsverlauf sichtbar. Somit konnten die Lage und der Abbau des eingesetzten Materials im Verlauf der Zeit vor allem bei den frühen Zeitpunkten nur bei den Tieren beurteilt werden, die mit Autograft behandelt wurden. Aus diesen Gründen müssen die Vergleiche zwischen den Gruppen mit Vorsicht interpretiert werden.

Für die radiologische Verlaufskontrolle wurde zu den entsprechenden Zeitpunkten der Castverband entfernt, die Röntgenbilder angefertigt und die Tiere mit einem neuen Castverband versehen. Die Aufnahme der Röntgenbilder musste in einigen Fällen wiederholt werden, da sich die Tiere je nach Kooperationsbereitschaft mehr oder weniger bewegten und dadurch unscharfe Bilder entstanden. In diesen wenigen Fällen mussten dann die Röntgenbilder mit bereits neu angelegtem Castverband nochmals angefertigt werden. Bei der Auswertung der Röntgenbilder wurde die durch das Verbandsmaterial entstandene Verschattung berücksichtigt und durch die gitterförmige Struktur des Materials selbst stellte die Beurteilung beim Scoring kein Problem dar. Während des Cast- und Röntgen-Prozesses wurden die Tiere in sitzender bzw. liegender Position von einer Person fixiert. Somit wurde gewährleistet, dass das operierte Bein nicht belastet wurde. Die mittels Mikroradiographie angefertigten Aufnahmen nach der Schlachtung wurden von den Defekt-Tibiae angefertigt. Dazu wurde die Platte am Knochen belassen, um einheitliche Röntgenbilder zu erhalten und die Bilder besser vergleichen zu können.

Beim Vergleich der Gruppen mit zwölf Monaten Überlebensdauer wiesen die Tiere mit Autograft als Knochenersatzmaterial v.a. in den ersten drei bis sechs Monaten postoperativ eine schnellere und komplettere Heilung auf und zeigten dabei einen homogenen Heilungsverlauf im Vergleich zu den Tieren mit PTH1/2. Zudem fiel auf, dass bei den Gruppen mit PTH1/2 tendenziell etwas mehr Kallus im anterior-posterioren Strahlengang medial auf der Platte vorhanden war als bei den Tieren mit Autograft. Dies konnte hingegen bei der makroskopischen Betrachtung der Knochen und Fotografien nicht umfassend bestätigt werden, sodass die Verdichtung im Röntgenbild vermutlich ein vorübergehendes Kallus-Phänomen darstellte. Bei den Tieren mit zwölf Monaten Überlebensdauer und PTH2 als Knochenersatzmaterial war auffällig, dass sich wenig röntgendichtes, wolkig erscheinendes Kallusgewebe kranial und kaudal entlang des Tibiaschafts gebildet hatte. Diese Erscheinung könnte dadurch erklärbar sein, dass das Fibringel eine niedrigere Viskosität als Autograft besitzt und sich somit intraoperativ beim Applizieren auch ungewollt in der Umgebung des Defekts verteilen kann. Schaf Nummer 16.10 (zwölf Monate Überlebensdauer/PTH1) zeigte einen schlechten Heilungsverlauf, obwohl Platten und Schrauben *in situ* waren. Der Grund dafür war nicht ersichtlich und scheint individuell bedingt zu sein, da die anderen Tiere dieser Gruppe keine besonderen Auffälligkeiten zeigten. Bei Schaf Nummer 16.19 (sechs Monate Überlebenszeitraum/Autograft) war auf den postoperativen Röntgenbildern eine leichte Verlagerung der proximalen Knochenhälfte nach kranial zu erkennen, wobei das Schaf einen normalen Heilungsverlauf zeigte. Somit scheinen leichte operations-technisch bedingte Verlagerungen der Knochenteile (dynamisches Schraubenloch) zueinander keinen Einfluss auf die Heilung zu haben. Schaf Nummer 16.51 (drei Monate Überlebenszeitraum/PTH2) zeigte postmortal keine Kallusbildung, sondern osteolytische Bereiche, was durch die gebrochene Platte und die daraus folgende Instabilität erklärbar ist. Jedoch hängt diese Komplikation nicht mit dem Knochenersatzmaterial zusammen. Das Brechen oder Ausreißen von Implantaten mit sekundärem Frakturkollaps ist eine bekannte Komplikation bei Versuchen dieser Art mit Schafen [88]. Dies ist vor allem durch das hohe Körpergewicht der Tiere, die relativ dünne Platte, die brüchige Knochenqualität des Schafes und die trotz Immobilisation mittels Castverband einwirkende hohe Belastung auf die operierte Extremität zu erklären. So gesehen ist die Komplikationsrate von 1.85% in der vorliegenden Studie recht niedrig und spricht für ein gutes Management der Tiere.

5.5 Statistische Auswertung der Röntgenaufnahmen

5.5.1 Kallus-Dichte

Beim Vergleich der Kallus-Dichte zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen (Autograft, PTH1, PTH2) unabhängig vom Überlebenszeitraum zeigten die Tiere der Gruppe Autograft zu Beginn eine signifikant höhere Kallus-Dichte als die Gruppen PTH1 und PTH2. Zu den späteren Zeitpunkten war kein signifikanter Unterschied der Kallus-Dichte zwischen den Behandlungsgruppen mehr auszumachen. Dieser Verlauf lässt sich dadurch erklären, dass Autograft eine höhere Röntgen-Dichte besitzt als das eingesetzte gelartige Knochenersatzmaterial und langsamer resorbiert wird als das zu testende Knochenersatzmaterial, wie es auch bereits in einer Vorgängerstudie zu sehen war [87].

Beim Vergleich der Tiere innerhalb der Gruppe Autograft zeigte sich bis zum Zeitpunkt drei Monate postoperativ eine konstante Zunahme der Kallus-Dichte wobei die Kallus-Dichte sechs Monate postoperativ im Vergleich zu drei Monate postoperativ und zwölf Monate postoperativ im Vergleich zu sechs Monate postoperativ etwas geringer ausfiel. Dieses Ergebnis könnte damit zusammenhängen, dass zu den späteren Zeitpunkten mehr Knochenremodellierung stattfindet, wodurch die Kallus-Dichte sinken kann [89].

Die Kallus-Dichte der Tiere, die mit PTH1 behandelt wurden, nahm innerhalb der ersten drei Monate nicht sehr deutlich zu. Im weiteren Heilungsverlauf stieg die Kallus-Dichte jedoch konstant an. Vermutlich war die PTH-Konzentration dieser Gruppe zu gering um die Knochenheilung bzw. die Kalzifizierung des neu gebildeten Gewebes vor allem zu Beginn ausreichend zu stimulieren. Die reine Proliferation von Zellen kann radiologisch nicht erfasst werden, genauso wenig wie Fibrinogen, das mit Zellen durchwachsen ist. Die zunehmende Kallus-Dichte zu den späteren Zeitpunkten könnte darauf zurückzuführen sein, dass zuerst vor allem eine Zellproliferation innerhalb der Fibrinmatrix und erst später eine Kalzifizierung des neu entstandenen weichen Kallusgewebes eintritt. In früheren Versuchen mit demselben Knochenersatzstoff in einem Bohrloch-Modell konnte diese Beobachtung jedenfalls gemacht werden [90]. Das Ausmass der Kalzifizierung war dabei auch abhängig von der Dosierung.

Bei den Tieren der Gruppe PTH2 zeigte sich von Anfang an innerhalb der ersten sechs Monate postoperativ eine kontinuierliche Zunahme der Kallus-Dichte, die neun und zwölf Monate postoperativ im Verlauf jedoch etwas geringer ausfiel als sechs Monate postoperativ. Die gewählte Dosierung PTH₁₋₃₄ scheint hier eine ausreichende

osteokonduktive und osteoinduktive Wirkung erzielt zu haben. Ähnlich wie bei den Tieren der Gruppe Autograft könnten die niedrigeren Werte neun und zwölf Monate postoperativ im Vergleich zur Kallus-Dichte sechs Monate postoperativ durch den fortschreitenden Remodellierungs-Prozess bedingt sein.

5.5.2 Kortikale Kallus-Bildung in medio-lateraler (m-l) und anterior-posteriorer (a-p) Projektion

Beim Vergleich der Behandlungsgruppen unabhängig vom Überlebenszeitraum zeigte die Gruppe Autograft bei der Auswertung der Röntgenbilder der m-l Projektion eine signifikant höhere Kallus-Bildung als die Gruppen PTH1 und PTH2 bis sechs Monate nach der Operation. Die Tiere der Gruppe Autograft erzielten bereits drei Monate postoperativ beinahe die vollständige Überbrückung des Defektes, wobei die Tiere der Behandlungsgruppen PTH1 und PTH2 erst neun und zwölf Monate postoperativ eine gute, aber keine vollständige Überbrückung des Defektes erreichten. Eigene Erfahrungen unserer Forschungsgruppe zeigten mehrfach, dass die Kallus-Bildung nach einer Osteotomie drei bis sechs Monate postoperativ am aktivsten ist [91,92]. Diese Beobachtung könnte die stetige Zunahme des Kallus der Gruppe Autograft in den ersten sechs Monaten nach der Operation erklären. Der Grund für die niedrigeren Werte der Gruppen PTH1 und PTH2 lässt sich nicht direkt erkennen.

Die langjährige Erfahrung (> 120 Fälle, noch nicht publiziert) hat jedoch gezeigt, dass sich das Muster der Kallus-Bildung beim Einsatz von Autograft verglichen mit PTH enthaltenden Knochenersatzmaterialien unterscheidet. So erfolgte die Kallus-Bildung bei der Verwendung von Autograft, vereinfacht gesagt, von aussen nach innen. Zuerst bildete sich eine Art Kallus-Manschette entlang der Kortex bevor der Defektspalt kontinuierlich nach innen durchbaut wurde. Bei der Verwendung von Knochenersatzmaterialien, die PTH enthielten, begann die Kallus-Bildung mehrheitlich zentral im Defekt und dehnte sich dann nach aussen in Richtung Kortex aus. Darin könnte begründet liegen, dass die kortikale Kallus-Bildung bzw. die umgebende Kallus-Manschette der Gruppe Autograft durch die Superimposition beim Scoring der Röntgenaufnahmen höher bewertet wurde als die Gruppen PTH1 und PTH2. In der vorliegenden Studie wurden keine histologischen Schnitte angefertigt, sodass dieser Knochenersatz-Mechanismus nicht eindeutig überprüft werden konnte.

Beim Vergleich der Behandlungsgruppen zeigten die Röntgenbilder der a-p Projektion ein ähnliches Bild wie die der m-l Projektion. Als einziger Unterschied fiel auf, dass in

dieser Projektion vor allem bei den Behandlungsgruppen Autograft und PTH1 das Niveau der Werte etwas niedriger ausfiel als in der m-l Projektion. Eine mögliche Erklärung für diese Beobachtung könnten die unterschiedlichen Darstellungen des Defektes in Abhängigkeit von der Projektion und damit der Superimposition der Weichteilgewebe und der Muskelpakete im kaudalen Bereich sein, welche den Defektspalt etwas maskierten. Ein weiterer Grund dafür könnte auch sein, dass der Defekt in der a-p Projektion komplett (Defektspalt, Cis- und Trans-Kortex) beurteilbar ist. Im Gegensatz dazu wird der Defektspalt in der m-l Projektion beinahe vollständig von der Osteosynthese-Platte überlagert, weshalb nur die kraniale bzw. kaudale Kallusbildung an den Defekträndern beurteilt werden kann. So erfolgt in der a-p Projektion vielleicht eine genauere und eventuell auch kritischere Beurteilung der Kallusbildung, wodurch sich das etwas niedrigere Niveau der Werte erklären lassen könnte.

Bei der Betrachtung des Verlaufs der Kallusbildung innerhalb der Behandlungsgruppen zeigten sich keine deutlichen Unterschiede zwischen den Projektionen. Alle Behandlungsgruppen wiesen eine kontinuierlich steigende Kallusbildung auf, wobei die Tiere der Gruppe Autograft bereits drei Monate postoperativ eine vollständige Überbrückung des Defekts an beiden Kortizes erreichten. Die Tiere der Gruppen PTH1 und PTH2 erreichten erst zu späteren Zeitpunkten eine recht hohe (PTH1) bzw. vollständige (PTH2) Überbrückung der Kortizes. Frühere, noch nicht veröffentlichte Studien haben ergeben, dass die hier verwendeten Dosierungen von PTH bei 1 cm grossen Tibia-Defekten bei Schafen gute Ergebnisse in Bezug auf die Knochenheilung erzielten. Allerdings wurden diese Proben nicht biomechanisch ausgewertet, sondern nur histologisch und können daher nicht direkt verglichen werden. Die vorliegenden und auch die früheren Ergebnisse lassen jedoch darauf schliessen, dass die höhere PTH-Dosierung der Gruppe PTH2 die Knochenheilung mehr stimuliert als die niedrigere Dosierung der Gruppe PTH1. Mithilfe dieser vorliegenden Studie wurde gezeigt, dass die TGplPTH₁₋₃₄ Dosierung von 1.0 mg/ml in diesem Modell bessere Ergebnisse erzielt als die TGplPTH₁₋₃₄ Dosierung von 0.4 mg/ml.

5.5.3 Remodellierung der Defektränder

Beim Vergleich der Behandlungsgruppen, unabhängig vom Überlebenszeitraum, zeigte die Gruppe Autograft ein Monat postoperativ signifikant höhere Scoring-Werte als die Gruppen PTH1 und PTH2. Zu allen weiteren Zeitpunkten bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Behandlungs-Gruppen. Bei der Betrachtung des

Verlaufs innerhalb der Gruppe Autograft zeigte sich ein Monat postoperativ eine mittlere bis hohe Remodellierung und zu allen weiteren Zeitpunkten eine vollständige Remodellierung der Defektränder. Bei den Tieren der Gruppe PTH2 zeigte sich, wie bei der Gruppe Autograft, zwei bis zwölf Monate postoperativ eine vollständige Remodellierung der Defektränder. Die Tiere der Gruppe PTH1 zeigten einen ungleichmässigen und teilweise schwankenden Verlauf und erzielten zu den späteren Zeitpunkten eine hohe, aber keine vollständige Remodellierung der Defektränder.

Die niedrigeren Werte der Gruppen PTH1 und PTH2 zum Zeitpunkt ein Monat postoperativ im Vergleich zur Gruppe Autograft könnten mit der antiinflammatorischen Eigenschaft von PTH erklärt werden. Durch diese Wirkung über IGF-I wird vor allem zu Beginn der Frakturheilung weniger Knochen resorbiert [93]. Im Rahmen der Knochenremodellierung wird zuerst altes Knochengewebe abgebaut, bevor neuer Knochen angelagert wird [94]. Zu den späteren Zeitpunkten könnte PTH die Anlagerung von neuem Knochengewebe durch seine proliferative Eigenschaft hingegen angeregt haben.

Die Remodellierungsaktivität der Gruppe PTH2 kommt den Ergebnissen der Gruppe Autograft, die als Positiv-Kontrolle diente, gleich. Die Dosierung dieser Gruppe scheint somit vergleichbare, positive und zufriedenstellende Ergebnisse in Bezug auf die Knochenremodellierung nach einer Osteotomie zu erzielen.

Eine mögliche Erklärung für die guten Ergebnisse der Gruppe PTH2 im Vergleich zur Gruppe PTH1 könnte darin liegen, dass die proliferative Wirkung von PTH durch die höhere Dosierung in der Gruppe PTH2 stärker stimuliert wurde. Im Gegensatz dazu könnte bei Gruppe PTH1 relativ wenig Knochen über einen längeren Zeitraum durch die niedrigere PTH-Dosierung angelagert worden sein und die Remodellierung somit niedriger ausfallen bzw. sich über einen längeren Zeitraum ziehen.

5.6 Statistische Auswertung der Biomechanik

Torsionstests konnten bei 43 der 54 Defekt-Tibiae und bei allen 54 kontralateralen Tibiae durchgeführt werden. Bei jeweils einem Schaf mit sechs Monaten Überlebenszeitraum, das mit PTH1 bzw. PTH2 behandelt wurde und bei vier bzw. fünf Schafen mit drei Monaten Überlebenszeitraum, die mit PTH1 bzw. PTH2 behandelt wurden, war die Durchführung eines Torsionstests nicht möglich, da die Tibiae nicht verheilt waren. In diesen Fällen wurde bereits während der Entfernung der Platte eine deutliche Instabilität festgestellt. Nachdem die Platte entfernt war, zeigten die beiden

durch den Defekt getrennten Knochenenden eine mehr oder weniger deutliche freie Beweglichkeit ohne manuelle Kraft aufzubringen. Drei Schafe mit sechs Monaten Überlebenszeitraum, die mit PTH1 behandelt wurden, ergaben bei der Messung des Bruchmoments [Nm] zu niedrige Werte, um die Steifigkeit [Nm/°] zu berechnen, da kein linearer Abschnitt in der Belastungs-Kurve vorlag. Die Tiere mit drei Monaten Überlebenszeitraum wurden von der statistischen Analyse ausgeschlossen, da sich aufgrund der neun aus 18 nicht messbaren Tibiae innerhalb der einzelnen Behandlungsgruppen zu geringe Probenanzahlen ergeben hätten. Die statistische Auswertung der biomechanischen Resultate wurde somit nur mit den Ergebnissen der Tiere mit sechs und zwölf Monaten Überlebenszeitraum durchgeführt.

Bereits in einer Vorläuferstudie zeigte sich, dass ein Überlebenszeitraum von drei Monaten in Bezug auf die Durchführung biomechanischer Tests nicht ausreichend lange ist [87]. Trotzdem wurde in dieser Studie der 3-Monats-Überlebenszeitraum gewählt, um den Verlauf der Frakturheilung zusammen mit den längeren Überlebenszeiträumen besser verfolgen zu können. Zukünftig sollte bei der Planung biomechanischer Studien genau abgewägt werden, ob es sinnvoll und gerechtfertigt ist, Tiere mit drei Monaten Überlebenszeitraum einzusetzen.

Beim Vergleich der erreichten Torsions-Werte der behandelten Tibiae zwischen den Behandlungsgruppen und unabhängig vom Überlebenszeitraum zeigte die Gruppe PTH2 die höchsten Werte, dicht gefolgt von Gruppe Autograft. Die Gruppe PTH1 wies signifikant niedrigere Werte als die Gruppe PTH2 auf. Die höchste Steifigkeit erzielte die Gruppe Autograft, die mit PTH2 behandelten Werte lagen nur knapp dahinter. Auch die Tiere der Gruppe PTH1 zeigten eine relativ hohe Steifigkeit. Diese Ergebnisse stimmen weitgehend mit den radiologischen Ergebnissen überein. Es bleibt zu berücksichtigen, dass die Probenanzahlen der Gruppen PTH1 und PTH2 im Vergleich zur Gruppe Autograft (vor allem bei der Messung der Steifigkeit) niedriger waren. Dadurch ergaben sich relativ hohe Mittelwerte für die Torsion und Steifigkeit der Gruppen PTH1 und PTH2, da die nicht bzw. unvollständig geheilten Knochen nicht getestet und somit nicht berücksichtigt werden konnten.

Der Vergleich zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen und den unterschiedlichen Überlebenszeiträumen (sechs und zwölf Monate) ergab für die Tiere mit sechs Monaten Überlebenszeitraum, dass die erreichten Torsions-Werte bei den Tieren der Gruppe PTH2 am höchsten waren, dicht gefolgt von der Gruppe Autograft. Bei den Tieren mit zwölf Monaten Überlebenszeitraum konnten alle Tibiae getestet werden und die Gruppe

Autograft wies die höchsten Torsions-Werte auf, wobei die Werte der Gruppe PTH2 knapp darunter lagen. Die mit PTH1 behandelten Tibiae erreichten sowohl in der 6- als auch 12-Monats-Gruppe die niedrigsten Torsions-Werte. Die unterschiedlichen Ergebnisse der 6- und 12-Monats-Gruppe sind darauf zurückzuführen, dass die Probenanzahl der Gruppe PTH2 zum Zeitpunkt sechs Monate geringer war als zum Zeitpunkt zwölf Monate.

Bei der Betrachtung der Steifigkeits-Werte der 6-Monats-Tiere zeigten die Gruppen PTH2 und PTH1 die höchsten Werte und die Tibiae der Gruppe Autograft wiesen eine relativ niedrige Steifigkeit auf. Diese Ergebnisse sind vor allem auf niedrige Probenanzahlen der Gruppen PTH1 und PTH2 zurückzuführen und haben daher eine begrenzte Aussagekraft, d.h. sie müssen mit Vorsicht interpretiert werden. Die Steifigkeits-Werte der 12-Monats-Gruppe sind hingegen aussagekräftig, da die Tibiae aller Tiere getestet werden konnten. Dort erzielte die Gruppe Autograft die höchste Steifigkeit, gefolgt von der Gruppe PTH2 und PTH1.

Abschliessend wurden die Torsion und die Steifigkeit zwischen den behandelten und kontralateralen, unbehandelten Tibiae innerhalb der einzelnen Behandlungsgruppen und unabhängig vom Überlebenszeitraum verglichen. Bei dieser Betrachtungsweise waren die Torsions-Werte der kontralateralen Tibiae aller Behandlungsgruppen signifikant höher als die Torsions-Werte der behandelten Tibiae. Dieses Ergebnis war zu erwarten und könnte damit erklärt werden, dass die osteotomierten Knochen, unabhängig von Behandlungsmethode und Überlebenszeitraum, unter den strengen Bedingungen der biomechanischen Tests in der vorliegenden Studie nicht die Ergebnisse der gesunden Knochen erreichen würden.

Auch bei der Steifigkeit zeigten die kontralateralen Tibiae der Gruppe PTH2 signifikant höhere Werte als die behandelten Tibiae. Interessanterweise bestand bei den Gruppen Autograft und PTH1 kein signifikanter Unterschied zwischen der Steifigkeit der kontralateralen und behandelten Tibiae. In Bezug auf die Gruppe Autograft ist dieses Ergebnis positiv zu werten, da die behandelten Tibiae offensichtlich eine ähnliche Steifigkeit wie die kontralateralen unbehandelten Tibiae aufwiesen. Das Ergebnis der Gruppe PTH1 ist erneut auf die niedrige Probenanzahl zurückzuführen und besitzt somit eine sehr begrenzte Aussagekraft.

Bei der Beurteilung der Ergebnisse muss berücksichtigt werden, dass das den Defekt umgebende Periost während der Operation entfernt wurde, um die Operationstechnik zu standardisieren und um verschärfte Bedingungen für die Heilung der Knochen zu

schaffen. Es sollte sichergestellt werden, dass nicht das Periost, sondern das Knochenersatzmaterial für die verbesserte Heilung verantwortlich war. Bei einer zukünftigen klinischen Anwendung des Knochenersatzmaterials würde im Rahmen einer Operation das Periost vor Ort belassen werden. Durch die osteogene Wirkung des Periosts [95] und sein regeneratives Potential im Rahmen der Knochenheilung [96] könnten bessere Ergebnisse erzielt werden, was inzwischen durch eine Studie mit Patienten im Rahmen eines Clinical Trial Phase I bestätigt wurde.

5.7 Statistische Auswertung der Mikro Computer Tomographie (μCT)

Die Knochen der Schafe mit zwölf Monaten Überlebenszeitraum wiesen nach den Torsionstests vermehrt Absplitterungen auf und ergaben deshalb etwas geringere Volumina im Vergleich zu den Tieren mit drei und sechs Monaten Überlebenszeitraum. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte die Tatsache sein, dass die Knochen dieser Gruppe relativ stabil verheilt waren, bzw. das unelastische Kallusgewebe dem Knochen eine hohe Stabilität verlieh. Durch die hohe aufgewendete Kraft während der Torsion könnte es beim Bruchmoment zur Entladung einer grossen Menge Energie gekommen sein, wodurch die Knochen stärker frakturierten und splitterten als die Knochen der Tiere mit kürzeren Überlebenszeiträumen. Trotz der etwas geringeren Volumina waren die normalisierten Ergebnisse dieser Gruppe mit den anderen Gruppen vergleichbar.

5.8 Schlussfolgerung und Perspektiven

In der vorliegenden Studie konnte die Eignung von TGplPTH₁₋₃₄ als Knochenersatzstoff gekoppelt an eine Fibrinmatrix bestätigt werden. Dabei waren die Ergebnisse der Schafe mit einer Dosierung von 1 mg/ml TGplPTH₁₋₃₄ bei einem segmentalen, 0.5 cm grossen Tibia-Defekt jenen mit einer Dosierung von 0.4 mg/ml vor allem zu den frühen Zeitpunkten überlegen. Zum Zeitpunkt zwölf Monate postoperativ waren die Ergebnisse der Gruppen PTH1 und PTH2 vergleichbar mit denjenigen der Autografts. Lediglich bei der makroskopischen Beurteilung der Röntgenbilder zeigte die Gruppe Autograft auch zu diesem Zeitpunkt bessere Resultate als die Gruppen PTH1 und PTH2.

Nach unserem Wissen sind wir die einzige Forschungsgruppe, die den lokalen Einsatz von TGplPTH₁₋₃₄, gebunden an ein Fibringerüst, in segmentalen Knochendefekten bei Schafen intensiv untersucht hat. Viele Forschungsarbeiten beschäftigen sich mit dem Einsatz von BMPs bei Knochendefekten und Erkrankungen des Bewegungsapparats [43]. In einer Studie an Schafen wurde die Knochenheilung eines segmentalen, 2.5 cm

grossen Femur-Defekts, der mit einer Platte stabilisiert und mit rhBMP-2 (mit demineralisierter Knochenmatrix als Träger) behandelt wurde, untersucht. Nach 52 Wochen zeigten die Tiere keine Lahmheit und die Knochen erwiesen sich postmortal als verheilt. Daraus schliessen die Autoren, dass sich rhBMP-2 mit einem passenden Trägerstoff als Alternative für Autograft eignen könnte [97]. Auch wenn einige wichtige Parameter dieser Studie mit der vorliegenden Studie übereinstimmen, so ist vor allem aufgrund des grösser gewählten Defekts kein direkter Vergleich zwischen TGplPTH₁₋₃₄ und rhBMP-2 möglich.

Die Bindung des TGplPTH₁₋₃₄ an eine Fibrinmatrix ermöglicht die lokale Applikation des Knochenersatzstoffes und seine schrittweise, kontinuierliche Freisetzung. In einer klinischen Studie wurde die subchondrale Knochen-Zyste einer Warmblut-Stute nach der chirurgischen Curretage lokal mit PTH₁₋₃₄, gebunden an eine Fibrin-Matrix, erfolgreich behandelt [98]. Dasselbe Fibrin-Matrix-System gekoppelt mit TGplPTH₁₋₃₄ diente in einer Studie über den Einsatz von Knochenersatzstoffen in einem Tibia-Defekt-Modell bei Schafen als Basis der vier eingesetzten Hydrogele, wobei das Hydrogel mit offener Porenstruktur ähnliche Ergebnisse lieferte wie autologe Spongiosa [99]. Da sich dieses System u.a. in den oben genannten Studien als zuverlässig erwiesen hat, wurde es im Rahmen dieser Studie als etablierte Methode angesehen und scheint erneut einwandfrei funktioniert zu haben.

Weitere (Langzeit-)Studien sind erforderlich, um zu untersuchen, ob TGplPTH₁₋₃₄ in entsprechender Dosierung das Potential besitzt, Autograft als Goldstandard zu ersetzen. Sollten in etwaigen Folgestudien Dosierungen über 1.0 mg/ml eingesetzt werden, dann könnten entsprechende Monitoring-Systeme eingerichtet werden, um eventuell auftretende Nebenwirkungen und die Langzeit-Verträglichkeit zu untersuchen.

Eine zusätzliche Möglichkeit, um die Wirkung von TGplPTH₁₋₃₄ weiter zu verbessern, könnte die Kombination mit anderen Biomaterialien wie z.B. Granula aus Kalziumphosphatkeramik sein, welche die Knochenheilung v.a. durch die vorgegebene Struktur und eine verbesserte Osteokonduktion stimulieren könnten. Das Belassen des Periosts im Rahmen der Osteotomie könnte bei zukünftigen Versuchen zudem bessere Heilungsverläufe liefern und gleichzeitig passendere Bedingungen bezüglich des Einsatzes von TGplPTH₁₋₃₄ in der Praxis simulieren.

6 Literaturverzeichnis

1. Meling, T.; Harboe, K.; Soreide, K. Incidence of traumatic long-bone fractures requiring in-hospital management: A prospective age- and gender-specific analysis of 4890 fractures. *Injury* **2009**, *40*, 1212-1219.
2. Court-Brown CM, B.R., Heckman JD. *Fractures of the tibia and fibula. Rockwood an green's fractures in adults*. Lippincott William's & Wilkins, Philadelphia: 2005.
3. Moore, W.R.; Graves, S.E.; Bain, G.I. Synthetic bone graft substitutes. *ANZ J Surg* **2001**, *71*, 354-361.
4. Lissenberg-Thunnissen, S.N.; de Gorter, D.J.; Sier, C.F.; Schipper, I.B. Use and efficacy of bone morphogenetic proteins in fracture healing. *Int Orthop* **2011**, *35*, 1271-1280.
5. Samartzis, D.; Shen, F.H.; Goldberg, E.J.; An, H.S. Is autograft the gold standard in achieving radiographic fusion in one-level anterior cervical discectomy and fusion with rigid anterior plate fixation? *Spine (Phila Pa 1976)* **2005**, *30*, 1756-1761.
6. Kolk, A.; Handschel, J.; Drescher, W.; Rothamel, D.; Kloss, F.; Blessmann, M.; Heiland, M.; Wolff, K.D.; Smeets, R. Current trends and future perspectives of bone substitute materials - from space holders to innovative biomaterials. *J Craniomaxillofac Surg* **2012**, *40*, 706-718.
7. Lewandrowski, K.U.; Gresser, J.D.; Wise, D.L.; Trantol, D.J. Bioresorbable bone graft substitutes of different osteoconductivities: A histologic evaluation of osteointegration of poly(propylene glycol-co-fumaric acid)-based cement implants in rats. *Biomaterials* **2000**, *21*, 757-764.
8. Bhatt, R.A.; Rozental, T.D. Bone graft substitutes. *Hand Clin* **2012**, *28*, 457-468.
9. Finkemeier, C.G. Bone-grafting and bone-graft substitutes. *J Bone Joint Surg Am* **2002**, *84-A*, 454-464.
10. Putzier, M.; Strube, P.; Funk, J.F.; Gross, C.; Monig, H.J.; Perka, C.; Pruss, A. Allogenic versus autologous cancellous bone in lumbar segmental spondylodesis: A randomized prospective study. *Eur Spine J* **2009**, *18*, 687-695.
11. Davidson, M.K.; Lindsey, J.R.; Davis, J.K. Requirements and selection of an animal model. *Isr J Med Sci* **1987**, *23*, 551-555.
12. ISO. Aami/iso 10993-6, biological evaluation of medical devices -- part 6: Tests for local effects after implantation, ed3. **2014**.
13. Turner, A.S. Experiences with sheep as an animal model for shoulder surgery: Strengths and shortcomings. *J Shoulder Elbow Surg* **2007**, *16*, S158-163.
14. Augat, P.; Margevicius, K.; Simon, J.; Wolf, S.; Suger, G.; Claes, L. Local tissue properties in bone healing: Influence of size and stability of the osteotomy gap. *J Orthop Res* **1998**, *16*, 475-481.
15. Bergmann, G.; Graichen, F.; Rohlmann, A. Hip joint forces in sheep. *J Biomech* **1999**, *32*, 769-777.
16. Newman, E.; Turner, A.S.; Wark, J.D. The potential of sheep for the study of osteopenia: Current status and comparison with other animal models. *Bone* **1995**, *16*, 277S-284S.
17. Willie, B.M.; Bloebaum, R.D.; Bireley, W.R.; Bachus, K.N.; Hofmann, A.A. Determining relevance of a weight-bearing ovine model for bone ingrowth assessment. *J Biomed Mater Res A* **2004**, *69*, 567-576.

18. den Boer, F.C.; Patka, P.; Bakker, F.C.; Wippermann, B.W.; van Lingen, A.; Vink, G.Q.; Boshuizen, K.; Haarman, H.J. New segmental long bone defect model in sheep: Quantitative analysis of healing with dual energy x-ray absorptiometry. *J Orthop Res* **1999**, *17*, 654-660.
19. Ravaglioli, A.; Krajewski, A.; Celotti, G.C.; Piancastelli, A.; Bacchini, B.; Montanari, L.; Zama, G.; Piombi, L. Mineral evolution of bone. *Biomaterials* **1996**, *17*, 617-622.
20. Pearce, A.I.; Richards, R.G.; Milz, S.; Schneider, E.; Pearce, S.G. Animal models for implant biomaterial research in bone: A review. *Eur Cell Mater* **2007**, *13*, 1-10.
21. Martini, L.; Fini, M.; Giavaresi, G.; Giardino, R. Sheep model in orthopedic research: A literature review. *Comp Med* **2001**, *51*, 292-299.
22. Turner, A.S. Animal models of osteoporosis--necessity and limitations. *Eur Cell Mater* **2001**, *1*, 66-81.
23. Kao, S.T.; Scott, D.D. A review of bone substitutes. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* **2007**, *19*, 513-521, vi.
24. Hing, K.A.; Annaz, B.; Saeed, S.; Revell, P.A.; Buckland, T. Microporosity enhances bioactivity of synthetic bone graft substitutes. *J Mater Sci Mater Med* **2005**, *16*, 467-475.
25. Karageorgiou, V.; Kaplan, D. Porosity of 3d biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials* **2005**, *26*, 5474-5491.
26. von Doernberg, M.C.; von Rechenberg, B.; Böhner, M.; Grunenfelder, S.; van Lenthe, G.H.; Müller, R.; Gasser, B.; Mathys, R.; Baroud, G.; Auer, J. In vivo behavior of calcium phosphate scaffolds with four different pore sizes. *Biomaterials* **2006**, *27*, 5186-5198.
27. Böhner, M.; Baumgart, F. Theoretical model to determine the effects of geometrical factors on the resorption of calcium phosphate bone substitutes. *Biomaterials* **2004**, *25*, 3569-3582.
28. Laurencin, C.; Khan, Y.; El-Amin, S.F. Bone graft substitutes. *Expert Rev Med Devices* **2006**, *3*, 49-57.
29. Nandi, S.K.; Roy, S.; Mukherjee, P.; Kundu, B.; De, D.K.; Basu, D. Orthopaedic applications of bone graft & graft substitutes: A review. *Indian J Med Res* **2010**, *132*, 15-30.
30. Campana, V.; Milano, G.; Pagano, E.; Barba, M.; Cicione, C.; Salonna, G.; Lattanzi, W.; Logroscino, G. Bone substitutes in orthopaedic surgery: From basic science to clinical practice. *J Mater Sci Mater Med* **2014**, *25*, 2445-2461.
31. Greenwald, A.S.; Boden, S.D.; Goldberg, V.M.; Khan, Y.; Laurencin, C.T.; Rosier, R.N. Bone-graft substitutes: Facts, fictions, and applications. *J Bone Joint Surg Am* **2001**, *83-A Suppl 2 Pt 2*, 98-103.
32. Dell, P.C.; Burchardt, H.; Glowczewskie, F.P., Jr. A roentgenographic, biomechanical, and histological evaluation of vascularized and non-vascularized segmental fibular canine autografts. *J Bone Joint Surg Am* **1985**, *67*, 105-112.
33. Johnson, L.L.; Morrison, K.M.; Wood, D.L. The application of arthroscopic principles to bone grafting of delayed union of long bone fractures. *Arthroscopy* **2000**, *16*, 279-289.
34. Welch, R.D.; Zhang, H.; Bronson, D.G. Experimental tibial plateau fractures augmented with calcium phosphate cement or autologous bone graft. *J Bone Joint Surg Am* **2003**, *85-A*, 222-231.
35. Cox, G.; Jones, E.; McGonagle, D.; Giannoudis, P.V. Reamer-irrigator-aspirator indications and clinical results: A systematic review. *Int Orthop* **2011**, *35*, 951-956.

-
36. Marx, R.E. Bone and bone graft healing. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* **2007**, *19*, 455-466, v.
 37. Bohatyrewicz, A.; Bohatyrewicz, R.; Klek, R.; Kaminski, A.; Dobiecki, K.; Bialecki, P.; Kedzierski, M.; Zienkiewicz, M.; Dziedzic-Goclawska, A. Factors determining the contamination of bone tissue procured from cadaveric and multiorgan donors. *Transplant Proc* **2006**, *38*, 301-304.
 38. Laursen, M.; Christensen, F.B.; Bunger, C.; Lind, M. Optimal handling of fresh cancellous bone graft: Different peroperative storing techniques evaluated by in vitro osteoblast-like cell metabolism. *Acta Orthop Scand* **2003**, *74*, 490-496.
 39. Fischer, J.; Kolk, A.; Wolfart, S.; Pautke, C.; Warnke, P.H.; Plank, C.; Smeets, R. Future of local bone regeneration - protein versus gene therapy. *J Craniomaxillofac Surg* **2011**, *39*, 54-64.
 40. Groeneveld, E.H.; Burger, E.H. Bone morphogenetic proteins in human bone regeneration. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies* **2000**, *142*, 9-21.
 41. Dimitriou, R.; Tsiridis, E.; Giannoudis, P.V. Current concepts of molecular aspects of bone healing. *Injury* **2005**, *36*, 1392-1404.
 42. Termaat, M.F.; Den Boer, F.C.; Bakker, F.C.; Patka, P.; Haarman, H.J. Bone morphogenetic proteins. Development and clinical efficacy in the treatment of fractures and bone defects. *J Bone Joint Surg Am* **2005**, *87*, 1367-1378.
 43. Kirker-Head, C.A. Potential applications and delivery strategies for bone morphogenetic proteins. *Advanced drug delivery reviews* **2000**, *43*, 65-92.
 44. Dinopoulos, H.; Dimitriou, R.; Giannoudis, P.V. Bone graft substitutes: What are the options? *Surgeon* **2012**, *10*, 230-239.
 45. Betz, O.B.; Betz, V.M.; Nazarian, A.; Egermann, M.; Gerstenfeld, L.C.; Einhorn, T.A.; Vrahas, M.S.; Bouxsein, M.L.; Evans, C.H. Delayed administration of adenoviral bmp-2 vector improves the formation of bone in osseous defects. *Gene therapy* **2007**, *14*, 1039-1044.
 46. Govender, S.; Csimma, C.; Genant, H.K.; Valentin-Opran, A.; Grp, B.S. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 for treatment of open tibial fractures - a prospective, controlled, randomized study of four hundred and fifty patients. *Journal of Bone and Joint Surgery-American Volume* **2002**, *84A*, 2123-2134.
 47. Friedlaender, G.E.; Perry, C.R.; Cole, J.D.; Cook, S.D.; Cierny, G.; Muschler, G.F.; Zych, G.A.; Calhoun, J.H.; LaForte, A.J.; Yin, S. Osteogenic protein-1 (bone morphogenetic protein-7) in the treatment of tibial nonunions. *J Bone Joint Surg Am* **2001**, *83-A Suppl 1*, S151-158.
 48. Ristiniemi, J.; Flinkkila, T.; Hyvonen, P.; Lakovaara, M.; Pakarinen, H.; Jalovaara, P. Rrhbm-7 accelerates the healing in distal tibial fractures treated by external fixation. *J Bone Joint Surg Br* **2007**, *89*, 265-272.
 49. Yilgor, P.; Hasirci, N.; Hasirci, V. Sequential bmp-2/bmp-7 delivery from polyester nanocapsules. *J Biomed Mater Res A* **2010**, *93*, 528-536.
 50. Boraiah, S.; Paul, O.; Hawkes, D.; Wickham, M.; Lorch, D.G. Complications of recombinant human bmp-2 for treating complex tibial plateau fractures: A preliminary report. *Clin Orthop Relat Res* **2009**, *467*, 3257-3262.
 51. Toth, J.M.; Boden, S.D.; Burkus, J.K.; Badura, J.M.; Peckham, S.M.; McKay, W.F. Short-term osteoclastic activity induced by locally high concentrations of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in a cancellous bone environment. *Spine (Phila Pa 1976)* **2009**, *34*, 539-550.
-

52. Mines, D.; Gu, Y.; Kou, T.D.; Cooper, G.S. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 and pancreatic cancer: A retrospective cohort study. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* **2011**, *20*, 111-118.
53. Tazaki, J.; Murata, M.; Akazawa, T.; Yamamoto, M.; Ito, K.; Arisue, M.; Shibata, T.; Tabata, Y. Bmp-2 release and dose-response studies in hydroxyapatite and beta-tricalcium phosphate. *Biomed Mater Eng* **2009**, *19*, 141-146.
54. Hamann, K.L.; Lane, N.E. Parathyroid hormone update. *Rheum Dis Clin North Am* **2006**, *32*, 703-719.
55. Poole, K.E.; Reeve, J. Parathyroid hormone - a bone anabolic and catabolic agent. *Curr Opin Pharmacol* **2005**, *5*, 612-617.
56. Quattrocchi, E.; Kourlas, H. Teriparatide: A review. *Clin Ther* **2004**, *26*, 841-854.
57. Locklin, R.M.; Khosla, S.; Turner, R.T.; Riggs, B.L. Mediators of the biphasic responses of bone to intermittent and continuously administered parathyroid hormone. *J Cell Biochem* **2003**, *89*, 180-190.
58. Rubin, M.R.; Bilezikian, J.P. New anabolic therapies in osteoporosis. *Curr Opin Rheumatol* **2002**, *14*, 433-440.
59. Ishizuya, T.; Yokose, S.; Hori, M.; Noda, T.; Suda, T.; Yoshiki, S.; Yamaguchi, A. Parathyroid hormone exerts disparate effects on osteoblast differentiation depending on exposure time in rat osteoblastic cells. *J Clin Invest* **1997**, *99*, 2961-2970.
60. Jilka, R.L.; Weinstein, R.S.; Bellido, T.; Roberson, P.; Parfitt, A.M.; Manolagas, S.C. Increased bone formation by prevention of osteoblast apoptosis with parathyroid hormone. *J Clin Invest* **1999**, *104*, 439-446.
61. Keller, H.; Kneissel, M. Sost is a target gene for pth in bone. *Bone* **2005**, *37*, 148-158.
62. Neer, R.M.; Arnaud, C.D.; Zanchetta, J.R.; Prince, R.; Gaich, G.A.; Reginster, J.Y.; Hodsman, A.B.; Eriksen, E.F.; Ish-Shalom, S.; Genant, H.K., *et al.* Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* **2001**, *344*, 1434-1441.
63. Chalidis, B.; Tzioupis, C.; Tsiridis, E.; Giannoudis, P.V. Enhancement of fracture healing with parathyroid hormone: Preclinical studies and potential clinical applications. *Expert Opin Investig Drugs* **2007**, *16*, 441-449.
64. Chen, H.; Frankenburg, E.P.; Goldstein, S.A.; McCauley, L.K. Combination of local and systemic parathyroid hormone enhances bone regeneration. *Clin Orthop Relat Res* **2003**, 291-302.
65. Kim, H.W.; Jahng, J.S. Effect of intermittent administration of parathyroid hormone on fracture healing in ovariectomized rats. *Iowa Orthop J* **1999**, *19*, 71-77.
66. Skripitz, R.; Aspenberg, P. Parathyroid hormone--a drug for orthopedic surgery? *Acta Orthop Scand* **2004**, *75*, 654-662.
67. Vahle, J.L.; Sato, M.; Long, G.G.; Young, J.K.; Francis, P.C.; Engelhardt, J.A.; Westmore, M.S.; Linda, Y.; Nold, J.B. Skeletal changes in rats given daily subcutaneous injections of recombinant human parathyroid hormone (1-34) for 2 years and relevance to human safety. *Toxicologic pathology* **2002**, *30*, 312-321.
68. Tashjian, A.H., Jr.; Chabner, B.A. Commentary on clinical safety of recombinant human parathyroid hormone 1-34 in the treatment of osteoporosis in men and postmenopausal women. *J Bone Miner Res* **2002**, *17*, 1151-1161.

-
69. Fang, J.; Zhu, Y.Y.; Smiley, E.; Bonadio, J.; Rouleau, J.P.; Goldstein, S.A.; McCauley, L.K.; Davidson, B.L.; Roessler, B.J. Stimulation of new bone formation by direct transfer of osteogenic plasmid genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1996**, *93*, 5753-5758.
70. Jung, R.E.; Cochran, D.L.; Domken, O.; Seibl, R.; Jones, A.A.; Buser, D.; Hammerle, C.H. The effect of matrix bound parathyroid hormone on bone regeneration. *Clin Oral Implants Res* **2007**, *18*, 319-325.
71. Liu, X.; Pettway, G.J.; McCauley, L.K.; Ma, P.X. Pulsatile release of parathyroid hormone from an implantable delivery system. *Biomaterials* **2007**, *28*, 4124-4131.
72. Wei, G.; Pettway, G.J.; McCauley, L.K.; Ma, P.X. The release profiles and bioactivity of parathyroid hormone from poly(lactic-co-glycolic acid) microspheres. *Biomaterials* **2004**, *25*, 345-352.
73. Beaupied, H.; Lespessailles, E.; Benhamou, C.L. Evaluation of macrostructural bone biomechanics. *Joint Bone Spine* **2007**, *74*, 233-239.
74. Taylor, D.; O'Reilly, P.; Vallet, L.; Lee, T.C. The fatigue strength of compact bone in torsion. *J Biomech* **2003**, *36*, 1103-1109.
75. Liebschner, M.A. Biomechanical considerations of animal models used in tissue engineering of bone. *Biomaterials* **2004**, *25*, 1697-1714.
76. Einhorn, T.A. Enhancement of fracture-healing. *J Bone Joint Surg Am* **1995**, *77*, 940-956.
77. White, A.A., 3rd; Panjabi, M.M.; Southwick, W.O. The four biomechanical stages of fracture repair. *J Bone Joint Surg Am* **1977**, *59*, 188-192.
78. Cordey, J.; Grutter, R.; Johner, R. The mechanical strength of bones in torsion application to human tibiae. *Injury* **2000**, *31 Suppl 3*, C68-71.
79. Grutter, R.; Cordey, J.; Wahl, D.; Koller, B.; Regazzoni, P. A biomechanical enigma: Why are tibial fractures not more frequent in the elderly? *Injury* **2000**, *31 Suppl 3*, C72-77.
80. Frankel, V.H.; Burstein, A.H. The biomechanics of refracture of bone. *Clin Orthop Relat Res* **1968**, *60*, 221-225.
81. Chehade, M.J.; Pohl, A.P.; Percy, M.J.; Nawana, N. Clinical implications of stiffness and strength changes in fracture healing. *J Bone Joint Surg Br* **1997**, *79*, 9-12.
82. Bruyere Garnier, K.; Dumas, R.; Rumelhart, C.; Arlot, M.E. Mechanical characterization in shear of human femoral cancellous bone: Torsion and shear tests. *Med Eng Phys* **1999**, *21*, 641-649.
83. Hong, J.; Cabe, G.D.; Tedrow, J.R.; Hipp, J.A.; Snyder, B.D. Failure of trabecular bone with simulated lytic defects can be predicted non-invasively by structural analysis. *J Orthop Res* **2004**, *22*, 479-486.
84. Burchardt, H. Biology of bone transplantation. *Orthop Clin North Am* **1987**, *18*, 187-196.
85. Lanyon, L.E.; Smith, R.N. Bone strain in the tibia during normal quadrupedal locomotion. *Acta Orthop Scand* **1970**, *41*, 238-248.
86. Lanyon, L.E.; Hampson, W.G.; Goodship, A.E.; Shah, J.S. Bone deformation recorded in vivo from strain gauges attached to the human tibial shaft. *Acta Orthop Scand* **1975**, *46*, 256-268.
87. Dobak, T. Knochenersatzstoffe für einen 1 cm Knochendefekt in der Tibia - eine biomechanische in vivo Studie in Schafen. Departement für Pferde der Vetsuisse-Fakultät, Universität Zürich, 2011.
-

88. Rechenberg, B.v. Animal models in bone repair. *Drug Discovery Today: Disease Models* **2015**.
89. Waselau, A.C.; Nadler, D.; Muller, J.M.; Zlinszky, K.; Hilbe, M.; Auer, J.A.; von Rechenberg, B. The effect of cartilage and bone density of mushroom-shaped, photooxidized, osteochondral transplants: An experimental study on graft performance in sheep using transplants originating from different species. *BMC Musculoskelet Disord* **2005**, *6*, 60.
90. Kemper, M. Screeningversuch zur Optimierung synthetischer und fibriner Hydrogele als dreidimensionale Trägersubstanz für Bone Morphogenetic Protein, Transforming Growth Factor β und Parathormon zur Beschleunigung der Knochenheilung. Departement für Pferde der Vetsuisse-Fakultät, Universität Zürich, 2003.
91. Stubinger, S.; Nuss, K.; Pongratz, M.; Price, J.; Sader, R.; Zeilhofer, H.F.; von Rechenberg, B. Comparison of er:Yag laser and piezoelectric osteotomy: An animal study in sheep. *Lasers in surgery and medicine* **2010**, *42*, 743-751.
92. Stubinger, S.; Biermeier, K.; Bachi, B.; Ferguson, S.J.; Sader, R.; von Rechenberg, B. Comparison of er:Yag laser, piezoelectric, and drill osteotomy for dental implant site preparation: A biomechanical and histological analysis in sheep. *Lasers in surgery and medicine* **2010**, *42*, 652-661.
93. Meinel, L.; Zoidis, E.; Zapf, J.; Hassa, P.; Hottiger, M.O.; Auer, J.A.; Schneider, R.; Gander, B.; Luginbuehl, V.; Bettschart-Wolfisberger, R., *et al.* Localized insulin-like growth factor i delivery to enhance new bone formation. *Bone* **2003**, *33*, 660-672.
94. Puzas, J.E.; O'Keefe, R.J.; Schwarz, E.M.; Zhang, X. Pharmacologic modulators of fracture healing: The role of cyclooxygenase inhibition. *Journal of musculoskeletal & neuronal interactions* **2003**, *3*, 308-312; discussion 320-301.
95. Orwoll, E.S. Toward an expanded understanding of the role of the periosteum in skeletal health. *J Bone Miner Res* **2003**, *18*, 949-954.
96. Colnot, C.; Zhang, X.; Knothe Tate, M.L. Current insights on the regenerative potential of the periosteum: Molecular, cellular, and endogenous engineering approaches. *J Orthop Res* **2012**, *30*, 1869-1878.
97. Kirker-Head, C.A.; Gerhart, T.N.; Schelling, S.H.; Hennig, G.E.; Wang, E.; Holtrop, M.E. Long-term healing of bone using recombinant human bone morphogenetic protein 2. *Clin Orthop Relat Res* **1995**, 222-230.
98. Fuerst, A.; Derungs, S.; von Rechenberg, B.; Auer, J.A.; Schense, J.; Watson, J. Use of a parathyroid hormone peptide (pth(1-34))-enriched fibrin hydrogel for the treatment of a subchondral cystic lesion in the proximal interphalangeal joint of a warmblood filly. *Journal of veterinary medicine. A, Physiology, pathology, clinical medicine* **2007**, *54*, 107-112.
99. Klein, K. In vivo Studie verschiedener Hydrogele mit variabler Porenstruktur im Vergleich. Departement für Pferde der Vetsuisse-Fakultät, Universität Zürich, 2008.

7 Abkürzungsverzeichnis

a-p	anterior-posterior
A.	Arteria
al.	alia (andere)
ANOVA	Analysis of variance
Autografts (A)	autogene Knochentransplantate
BMP	Bone morphogenetic protein
C	Celsius
ca.	circa
cm	Centimeter
h	Stunde
Hz	Hertz
I.E.	Internationale Einheiten
i.m.	intramuskulär
i.v.	intravenös
IGF	Insulin like growth factor
kg	Kilogramm
KGW	Körpergewicht
kV	Kilovolt
LC-DCP	low contact dynamic compression plate
m	months = Monate
m-l	medio-lateral
mAs	Milliamperesekunden
mg	Milligramm
ml	Milliliter
N	Newton
Nm	Newtonmeter
OP	Operation
p	Signifikanzniveau
p.o.	per os
PMMA	Polymethylmethacrylat
PTH	Parathormon
PTH1	Parathormon Dosierung 1 (0.4 mg/ml)
PTH2	Parathormon Dosierung 2 (1 mg/ml)
s	Sekunde
s.c.	subkutan
TGF	Transforming growth factor
TGplPTH ₁₋₃₄	verkürzte Form des humanen PTH gebunden an Fibrinmatrix
us. vet.	usum veterinarium
μCT	Mikro Computer Tomographie
μl	Mikroliter

8 Anhang

8.1 Tabellen

8.1.1 Röntgen

Tab. 8.1.1.1: Mittelwerte \pm Standardabweichung der Kallus-Dichte der einzelnen Behandlungsgruppen zu allen Zeitpunkten (Univariate, einfaktorielle Varianzanalyse)

Parameter	Gruppe Autograft	Gruppe PTH 1	Gruppe PTH 2	Signifikanz*
Kallus-Dichte pOP	0.72 \pm 0.46	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.000
Kallus-Dichte 1 Mt	1.31 \pm 0.46	0.89 \pm 0.32	1.03 \pm 0.12	0.002
Kallus-Dichte 2 Mt	1.56 \pm 0.48	1.06 \pm 0.42	1.25 \pm 0.43	0.005
Kallus-Dichte 3 Mt	1.75 \pm 0.39	1.19 \pm 0.46	1.36 \pm 0.48	0.001
Kallus-Dichte 6 Mt	1.83 \pm 0.39	1.50 \pm 0.56	1.88 \pm 0.43	0.115
Kallus-Dichte 9 Mt	2.33 \pm 0.41	2.00 \pm 0.63	2.00 \pm 0.00	0.335
Kallus-Dichte 12 Mt	2.08 \pm 0.20	2.00 \pm 0.00	2.00 \pm 0.00	0.391

*Signifikanz der univariaten, einfaktoriellen Varianzanalyse, Signifikanzniveau bei $p < 0.05$

Tab. 8.1.1.2: Mittelwerte \pm Standardabweichung der Kallus-Dichte der einzelnen Behandlungs- und Überlebenszeitraumgruppen zu allen Zeitpunkten (Einfaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholung)

Behandlungsgruppe	Überlebenszeitraum	Kallus-Dichte 1 Mt	Kallus-Dichte 2 Mt	Kallus-Dichte 3 Mt	Kallus-Dichte 6 Mt	Kallus-Dichte 9 Mt	Kallus-Dichte 12 Mt	Signifikanz*
Gruppe Autograft	3 Mt	1.08 \pm 0.20	1.50 \pm 0.45	1.75 \pm 0.42				0.021
	6 Mt	1.83 \pm 0.41	1.83 \pm 0.41	1.83 \pm 0.41	1.67 \pm 0.52			0.363
	12 Mt	1.00 \pm 0.00	1.33 \pm 0.52	1.75 \pm 0.42	2.00 \pm 0.00	2.33 \pm 0.41	2.08 \pm 0.20	0.006
Gruppe PTH 1	3 Mt	1.00 \pm 0.00	1.17 \pm 0.41	1.33 \pm 0.52				0.444
	6 Mt	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	1.42 \pm 0.49			0.093
	12 Mt	0.67 \pm 0.52	1.00 \pm 0.63	1.25 \pm 0.61	1.58 \pm 0.66	2.00 \pm 0.63	2.00 \pm 0.00	0.021
Gruppe PTH 2	3 Mt	1.08 \pm 0.20	1.17 \pm 0.41	1.17 \pm 0.41				0.363
	6 Mt	1.00 \pm 0.00	1.25 \pm 0.42	1.42 \pm 0.49	1.67 \pm 0.52			0.292
	12 Mt	1.00 \pm 0.00	1.33 \pm 0.52	1.50 \pm 0.55	2.08 \pm 0.21	2.00 \pm 0.00	2.00 \pm 0.00	0.000

*Signifikanz der einfaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholung, Signifikanzniveau bei $p < 0.05$

Tab. 8.1.1.3: Mittelwerte \pm Standardabweichung der Kallus-Bildung (anterior-posterior und medio-lateral) der einzelnen Behandlungsgruppen zu allen Zeitpunkten (Univariate, einfaktorielle Varianzanalyse)

Parameter	Gruppe Autograft		Gruppe PTH 1		Gruppe PTH 2		Signifikanz*	
	ap	ml	ap	ml	ap	ml	ap	ml
Kallus-Bildung 1 Mt	2.19 \pm 0.57	2.36 \pm 0.98	1.06 \pm 0.80	1.08 \pm 0.83	1.19 \pm 0.62	1.08 \pm 0.83	0.000	0.000
Kallus-Bildung 2 Mt	3.14 \pm 0.82	3.53 \pm 0.83	2.03 \pm 0.90	1.69 \pm 1.17	2.14 \pm 0.72	1.92 \pm 0.88	0.000	0.000
Kallus-Bildung 3 Mt	3.50 \pm 0.77	3.89 \pm 0.47	2.22 \pm 0.93	2.11 \pm 1.18	2.53 \pm 0.87	2.31 \pm 1.14	0.000	0.000
Kallus-Bildung 6 Mt	4.00 \pm 0.00	4.00 \pm 0.00	2.71 \pm 1.03	3.21 \pm 0.92	3.17 \pm 0.62	3.29 \pm 0.69	0.000	0.011
Kallus-Bildung 9 Mt	4.00 \pm 0.00	4.00 \pm 0.00	3.50 \pm 0.78	3.92 \pm 0.20	3.75 \pm 0.42	4.00 \pm 0.00	0.265	0.391
Kallus-Bildung 12 Mt	4.00 \pm 0.00	4.00 \pm 0.00	3.75 \pm 0.61	3.92 \pm 0.20	3.83 \pm 0.26	4.00 \pm 0.00	0.531	0.391

*Signifikanz der univariaten, einfaktoriellen Varianzanalyse, Signifikanzniveau bei $p < 0.05$

Tab. 8.1.1.4: Mittelwerte \pm Standardabweichung der Kallus-Bildung (anterior-posterior und medio-lateral) der einzelnen Behandlungs- und Überlebenszeitraumgruppen zu allen Zeitpunkten (Einfaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholung)

Behandlungsgruppe		Gruppe Autograft			Gruppe PTH 1			Gruppe PTH 2		
Überlebenszeitraum		3 Mt	6 Mt	12 Mt	3 Mt	6 Mt	12 Mt	3 Mt	6 Mt	12 Mt
Kallus-Bildung 1 Mt	ap	2.08 \pm 0.58	2.50 \pm 0.45	2.00 \pm 0.63	1.33 \pm 0.75	0.83 \pm 0.82	1.00 \pm 0.89	1.25 \pm 0.82	1.17 \pm 0.68	1.17 \pm 0.41
	ml	2.33 \pm 0.82	2.75 \pm 1.37	2.00 \pm 0.63	1.08 \pm 1.02	1.00 \pm 0.55	1.17 \pm 0.98	1.00 \pm 1.05	0.92 \pm 0.92	1.33 \pm 0.52
Kallus-Bildung 2 Mt	ap	3.33 \pm 0.41	3.08 \pm 1.11	3.00 \pm 0.89	2.33 \pm 0.93	2.08 \pm 0.97	1.67 \pm 0.82	2.17 \pm 0.82	2.33 \pm 0.61	1.92 \pm 0.80
	ml	3.75 \pm 0.27	3.50 \pm 1.22	3.33 \pm 0.82	2.08 \pm 1.50	1.42 \pm 0.66	1.58 \pm 1.28	1.83 \pm 0.68	2.17 \pm 1.13	1.75 \pm 0.88
Kallus-Bildung 3 Mt	ap	3.50 \pm 0.45	3.67 \pm 0.82	3.33 \pm 1.03	2.33 \pm 1.17	2.25 \pm 0.69	2.08 \pm 1.02	2.08 \pm 0.80	3.00 \pm 0.84	2.50 \pm 0.84
	ml	4.00 \pm 0.00	3.67 \pm 0.82	4.00 \pm 0.00	2.33 \pm 1.54	2.00 \pm 0.89	2.00 \pm 1.22	1.92 \pm 0.80	2.92 \pm 1.36	2.08 \pm 1.11
Kallus-Bildung 6 Mt	ap		4.00 \pm 0.00	4.00 \pm 0.00		2.83 \pm 0.75	2.58 \pm 1.32		3.25 \pm 0.82	3.08 \pm 0.38
	ml		4.00 \pm 0.00	4.00 \pm 0.00		3.58 \pm 0.38	2.83 \pm 1.17		3.42 \pm 0.92	3.17 \pm 0.41
Kallus-Bildung 9 Mt	ap			4.00 \pm 0.00			3.50 \pm 0.77			3.75 \pm 0.42
	ml			4.00 \pm 0.00			3.92 \pm 0.20			4.00 \pm 0.00
Kallus-Bildung 12 Mt	ap			4.00 \pm 0.00			3.75 \pm 0.61			3.83 \pm 0.26
	ml			4.00 \pm 0.00			3.92 \pm 0.02			4.00 \pm 0.00
Signifikanz*	ap	0.010	0.022	0.029	0.061	0.003	0.080	0.305	0.020	0.187
	ml	0.028	0.008	0.005	0.069	0.002	0.084	0.128	0.027	0.015

*Signifikanz der einfaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholung, Signifikanzniveau bei $p < 0.05$

Tab. 8.1.1.5: Mittelwerte \pm Standardabweichung der Kallus-Remodelierung der einzelnen Behandlungsgruppen zu allen Zeitpunkten (Univariate, einfaktorielle Varianzanalyse)

Parameter	Gruppe Autograft	Gruppe PTH 1	Gruppe PTH 2	Signifikanz*
Remodelierung 1 Mt	0.72 \pm 0.46	0.22 \pm 0.43	0.28 \pm 0.46	0.003
Remodelierung 2 Mt	1.00 \pm 0.00	0.78 \pm 0.65	1.00 \pm 0.00	0.130
Remodelierung 3 Mt	1.00 \pm 0.00	0.72 \pm 0.67	1.00 \pm 0.00	0.054
Remodelierung 6 Mt	1.00 \pm 0.00	0.67 \pm 0.78	1.00 \pm 0.00	0.127
Remodelierung 9 Mt	1.00 \pm 0.00	0.83 \pm 0.41	1.00 \pm 0.00	0.391
Remodelierung 12 Mt	1.00 \pm 0.00	0.83 \pm 0.41	1.00 \pm 0.00	0.391

*Signifikanz der univariaten, einfaktoriellen Varianzanalyse, Signifikanzniveau bei $p < 0.05$

Tab. 8.1.1.6: Mittelwerte \pm Standardabweichung der Kallus-Remodelierung der einzelnen Behandlungs- und Überlebenszeitraumgruppen zu allen Zeitpunkten (Einfaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholung)

Behandlungsgruppe	Überlebenszeitraum	Kallus-Remodelierung 1 Mt	Kallus-Remodelierung 2 Mt	Kallus-Remodelierung 3 Mt	Kallus-Remodelierung 6 Mt	Kallus-Remodelierung 9 Mt	Kallus-Remodelierung 12 Mt	Signifikanz*
Gruppe Autograft	3 Mt	0.50 \pm 0.55	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00				0.076
	6 Mt	0.83 \pm 0.41	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00			0.363
	12 Mt	0.83 \pm 0.41	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	0.363
Gruppe PTH 1	3 Mt	0.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00				nicht berechenbar
	6 Mt	0.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	0.67 \pm 0.82	0.67 \pm 0.82			0.267
	12 Mt	0.67 \pm 0.52	0.33 \pm 1.03	0.50 \pm 0.84	0.67 \pm 0.82	0.83 \pm 0.41	0.83 \pm 0.41	0.500
Gruppe PTH 2	3 Mt	0.17 \pm 0.41	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00				0.004
	6 Mt	0.17 \pm 0.41	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00			0.004
	12 Mt	0.50 \pm 0.55	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	0.076

*Signifikanz der einfaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholung, Signifikanzniveau bei $p < 0.05$

8.1.2 Biomechanik: Torsionstests

Tab. 8.1.2.1: Werte des Bruchmoments (T [Nm]) und der Steifigkeit (S [Nm/°]) der Schafe mit 12 Monaten Überlebenszeitraum; n.m. = nicht messbar, n.b. = nicht berechenbar

Schaf-nummer	Überlebens-zeitraum	Material behandelte Tibia/kontralaterale Tibia	T [Nm]	S [Nm/°]
16.01	12 Mt	Autograft	60.32	4.76
16.01	12 Mt	Kontralateral Autograft	66.54	3.50
16.02	12 Mt	Autograft	61.25	4.80
16.02	12 Mt	Kontralateral Autograft	62.92	3.58
16.03	12 Mt	Autograft	65.43	5.81
16.03	12 Mt	Kontralateral Autograft	69.67	4.08
16.04	12 Mt	Autograft	39.65	3.67
16.04	12 Mt	Kontralateral Autograft	60.12	3.58
16.05	12 Mt	Autograft	55.99	5.12
16.05	12 Mt	Kontralateral Autograft	69.55	5.28
16.06	12 Mt	Autograft	64.35	4.80
16.06	12 Mt	Kontralateral Autograft	81.80	5.01
16.07	12 Mt	PTH 1	54.15	4.76
16.07	12 Mt	Kontralateral PTH 1	72.05	3.93
16.08	12 Mt	PTH 1	41.85	3.69
16.08	12 Mt	Kontralateral PTH 1	64.81	3.94
16.09	12 Mt	PTH 1	33.85	3.54
16.09	12 Mt	Kontralateral PTH 1	58.78	4.30
16.10	12 Mt	PTH 1	10.06	1.22
16.10	12 Mt	Kontralateral PTH 1	49.37	3.19
16.11	12 Mt	PTH 1	53.75	4.42
16.11	12 Mt	Kontralateral PTH 1	74.02	5.06
16.12	12 Mt	PTH 1	51.67	4.07
16.12	12 Mt	Kontralateral PTH 1	67.72	4.64
16.13	12 Mt	PTH 2	51.42	3.90
16.13	12 Mt	Kontralateral PTH 2	52.11	3.46
16.14	12 Mt	PTH 2	57.02	4.10
16.14	12 Mt	Kontralateral PTH 2	85.99	4.11
16.15	12 Mt	PTH 2	36.47	3.76
16.15	12 Mt	Kontralateral PTH 2	57.31	3.41
16.16	12 Mt	PTH 2	68.86	6.11
16.16	12 Mt	Kontralateral PTH 2	87.65	5.19
16.17	12 Mt	PTH 2	48.01	3.12
16.17	12 Mt	Kontralateral PTH 2	60.58	3.71
16.18	12 Mt	PTH 2	62.62	4.80
16.18	12 Mt	Kontralateral PTH 2	78.78	5.08

Fortsetzung Tab. 8.1.2.1: Werte des Bruchmoments (T [Nm]) und der Steifigkeit (S [Nm/°]) der Schafe mit 6 Monaten Überlebenszeitraum; n.m. = nicht messbar, n.b. = nicht berechenbar

Schaf-nummer	Überlebens-zeitraum	Material behandelte Tibia/kontralaterale Tibia	T [Nm]	S [Nm/°]
16.19	6 Mt	Autograft	60.76	4.24
16.19	6 Mt	Kontralateral Autograft	74.05	4.91
16.20	6 Mt	Autograft	48.82	4.42
16.20	6 Mt	Kontralateral Autograft	75.61	4.61
16.21	6 Mt	Autograft	40.47	2.43
16.21	6 Mt	Kontralateral Autograft	58.30	2.97
16.22	6 Mt	Autograft	45.30	3.77
16.22	6 Mt	Kontralateral Autograft	68.31	4.31
16.23	6 Mt	Autograft	23.67	2.05
16.23	6 Mt	Kontralateral Autograft	57.18	3.25
16.24	6 Mt	Autograft	40.34	3.82
16.24	6 Mt	Kontralateral Autograft	56.67	3.66
16.25	6 Mt	PTH 1	n.m.	n.m.
16.25	6 Mt	Kontralateral PTH 1	53.87	2.89
16.26	6 Mt	PTH 1	46.06	3.60
16.26	6 Mt	Kontralateral PTH 1	79.40	4.67
16.27	6 Mt	PTH 1	22.09	3.21
16.27	6 Mt	Kontralateral PTH 1	61.97	3.92
16.28	6 Mt	PTH 1	4.89	n.b.
16.28	6 Mt	Kontralateral PTH 1	46.58	3.86
16.29	6 Mt	PTH 1	11.24	n.b.
16.29	6 Mt	Kontralateral PTH 1	54.43	3.56
16.30	6 Mt	PTH 1	n.m.	n.m.
16.30	6 Mt	Kontralateral PTH 1	72.82	4.77
16.31	6 Mt	PTH 2	51.36	4.17
16.31	6 Mt	Kontralateral PTH 2	65.31	2.79
16.32	6 Mt	PTH 2	n.m.	n.m.
16.32	6 Mt	Kontralateral PTH 2	62.83	3.81
16.33	6 Mt	PTH 2	61.15	4.26
16.33	6 Mt	Kontralateral PTH 2	79.04	4.37
16.34	6 Mt	PTH 2	8.03	0.56
16.34	6 Mt	Kontralateral PTH 2	58.82	3.35
16.35	6 Mt	PTH 2	63.60	4.42
16.35	6 Mt	Kontralateral PTH 2	68.83	4.46
16.36	6 Mt	PTH 2	58.97	4.46
16.36	6 Mt	Kontralateral PTH 2	77.82	4.69

Fortsetzung Tab. 8.1.2.1: Werte des Bruchmoments (T [Nm]) und der Steifigkeit (S [Nm/°]) der Schafe mit 3 Monaten Überlebenszeitraum; n.m. = nicht messbar, n.b. = nicht berechenbar

Schaf-nummer	Überlebens-zeitraum	Material behandelte Tibia/kontralaterale Tibia	T [Nm]	S [Nm/°]
16.37*	3 Mt	Autograft	47.41	3.90
16.37*	3 Mt	Kontralateral Autograft	72.36	3.50
16.38*	3 Mt	Autograft	64.49	5.88
16.38*	3 Mt	Kontralateral Autograft	77.94	4.28
16.39*	3 Mt	Autograft	20.87	2.18
16.39*	3 Mt	Kontralateral Autograft	64.03	4.07
16.40*	3 Mt	Autograft	27.36	2.48
16.40*	3 Mt	Kontralateral Autograft	69.37	3.67
16.41*	3 Mt	Autograft	19.74	2.74
16.41*	3 Mt	Kontralateral Autograft	59.66	4.09
16.42*	3 Mt	Autograft	34.25	3.51
16.42*	3 Mt	Kontralateral Autograft	70.29	4.40
16.43*	3 Mt	PTH 1	19.29	4.00
16.43*	3 Mt	Kontralateral PTH 1	67.45	3.60
16.44*	3 Mt	PTH 1	n.m.	n.m.
16.44*	3 Mt	Kontralateral PTH 1	60.86	3.05
16.45*	3 Mt	PTH 1	41.58	3.38
16.45*	3 Mt	Kontralateral PTH 1	71.38	4.05
16.46*	3 Mt	PTH 1	n.m.	n.m.
16.46*	3 Mt	Kontralateral PTH 1	63.99	4.31
16.47*	3 Mt	PTH 1	n.m.	n.m.
16.47*	3 Mt	Kontralateral PTH 1	68.52	4.82
16.48*	3 Mt	PTH 1	n.m.	n.m.
16.48*	3 Mt	Kontralateral PTH 1	52.61	3.71
16.49*	3 Mt	PTH 2	32.23	3.98
16.49*	3 Mt	Kontralateral PTH 2	86.56	5.61
16.50*	3 Mt	PTH 2	n.m.	n.m.
16.50*	3 Mt	Kontralateral PTH 2	77.42	4.62
16.51*	3 Mt	PTH 2	n.m.	n.m.
16.51*	3 Mt	Kontralateral PTH 2	71.81	4.98
16.52*	3 Mt	PTH 2	n.m.	n.m.
16.52*	3 Mt	Kontralateral PTH 2	47.91	3.48
16.53*	3 Mt	PTH 2	n.m.	n.m.
16.53*	3 Mt	Kontralateral PTH 2	63.64	4.22
16.54*	3 Mt	PTH 2	4.86	n.b.
16.54*	3 Mt	Kontralateral PTH 2	87.56	5.91

*Die Daten dieser Schafnummern wurden bei der weiteren statistischen Analyse nicht berücksichtigt

Tab. 8.1.2.2: Werte des Bruchmoments (T [Nm]) und der Steifigkeit (S [Nm/ °]) aller Behandlungsgruppen (Univariate, einfaktorielle Varianzanalyse)

Parameter/ Anzahl	Torsion [Nm]	Steifigkeit [Nm/°]
Gruppe Autograft	50.48 ± 12.92	4.10 ± 1.14
N	12	12
Gruppe PTH 1	32.93 ± 19.41	3.59 ± 1.10
N	10	8
Gruppe PTH 2	51.59 ± 16.97	3.97 ± 1.35
N	11	11
Signifikanz*	0.024	0.648

*Signifikanz der univariaten, einfaktoriellen Varianzanalyse, Signifikanzniveau bei $p < 0.05$

Tab. 8.1.2.3: Werte des Bruchmoments (T [Nm]) und der Steifigkeit (S [Nm/ °]) aller Behandlungsgruppen und der Schafe mit 6 und 12 Monaten Überlebenszeitraum (Univariate, einfaktorielle Varianzanalyse)

Behandlungs- gruppe	Überlebens- zeitraum	Torsion [Nm]	N	Steifigkeit [Nm/°]	N
Gruppe Autograft	6 Mt	43.13 ± 12.12	6	3.37 ± 1.07	6
	12 Mt	57.83 ± 9.51	6	4.82 ± 0.69	6
Gruppe PTH 1	6 Mt	21.00 ± 18.09	4	3.50 ± 0.71	2
	12 Mt	40.89 ± 17.08	6	3.62 ± 1.26	6
Gruppe PTH 2	6 Mt	48.62 ± 23.15	5	3.57 ± 1.69	5
	12 Mt	54.07 ± 11.44	6	4.30 ± 1.04	6
Signifikanz*	6 Mt	0.094		0.969	
	12 Mt	0.094		0.157	

*Signifikanz der univariaten, einfaktoriellen Varianzanalyse, Signifikanzniveau bei $p < 0.05$

Tab. 8.1.2.4: Werte des Bruchmoments (T [Nm]) und der Steifigkeit (S [Nm/ °]) aller Behandlungsgruppen; Vergleich der behandelten und kontralateralen Tibiae (Univariate, einfaktorielle Varianzanalyse)

Behandlungsgruppe	Tibia	Torsion [Nm]	N	Steifigkeit [Nm/°]	N
Gruppe Autograft	Behandelt	50.53 ± 12.91	12	4.14 ± 1.08	12
	Kontralateral	66.73 ± 7.98	12	4.06 ± 0.75	12
	Signifikanz*	0.001		0.840	
Gruppe PTH 1	Behandelt	32.96 ± 19.39	10	3.56 ± 1.07	8
	Kontralateral	62.99 ± 10.55	12	4.06 ± 0.66	12
	Signifikanz*	0.000		0.214	
Gruppe PTH 2	Behandelt	51.59 ± 16.97	11	3.97 ± 1.35	11
	Kontralateral	69.59 ± 11.89	12	4.04 ± 0.74	12
	Signifikanz*	0.007		0.023	

*Signifikanz der univariaten, einfaktoriellen Varianzanalyse, Signifikanzniveau bei $p < 0.05$

8.1.3 Mikro Computer Tomographie

Tab. 8.1.3.1: Mittelwert, Median und Standardabweichung der berechneten Indizes der einzelnen Behandlungs- und Überlebenszeitgruppen (Daten wurden mit freundlicher Genehmigung von Martin Stauber übernommen)

Index	Einheit	Behandlungsgruppe	Überlebenszeitraum	Bezeichnung	Mittelwert	Median	Stabw
TV gobjit	mm ³	Autograft	3 Mt	T 1 * 3 m	1046.00	1045.00	70.93
			6 Mt	T 1 * 6 m	948.60	945.20	129.60
			12 Mt	T 1 * 12 m	972.90	945.80	234.70
		PTH 1	3 Mt	T 2 * 3 m	990.90	967.90	64.34
			6 Mt	T 2 * 6 m	945.60	956.80	143.90
			12 Mt	T 2 * 12 m	768.90	803.30	142.70
		PTH 2	3 Mt	T 3 * 3 m	1087.00	1046.00	103.60
			6 Mt	T 3 * 6 m	1019.00	944.90	239.10
			12 Mt	T 3 * 12 m	885.40	939.70	243.00
TV outco	mm ³	Autograft	3 Mt	T 1 * 3 m	14400.00	14010.00	1679.00
			6 Mt	T 1 * 6 m	14230.00	14450.00	1345.00
			12 Mt	T 1 * 12 m	14290.00	15140.00	3242.00
		PTH 1	3 Mt	T 2 * 3 m	13970.00	13840.00	1138.00
			6 Mt	T 2 * 6 m	13210.00	12970.00	2397.00
			12 Mt	T 2 * 12 m	8488.00	8075.00	2873.00
		PTH 2	3 Mt	T 3 * 3 m	15000.00	15320.00	1668.00
			6 Mt	T 3 * 6 m	14800.00	14620.00	2318.00
			12 Mt	T 3 * 12 m	12890.00	13550.00	4501.00
TV shaft	mm ³	Autograft	3 Mt	T 1 * 3 m	10540.00	10510.00	830.00
			6 Mt	T 1 * 6 m	9739.00	9760.00	1316.00
			12 Mt	T 1 * 12 m	9883.00	9622.00	2026.00
		PTH 1	3 Mt	T 2 * 3 m	10230.00	10070.00	596.30
			6 Mt	T 2 * 6 m	9625.00	9801.00	1230.00
			12 Mt	T 2 * 12 m	6708.00	6639.00	946.90
		PTH 2	3 Mt	T 3 * 3 m	11280.00	10900.00	1062.00
			6 Mt	T 3 * 6 m	10190.00	9952.00	1052.00
			12 Mt	T 3 * 12 m	9572.00	9912.00	1673.00
TV outcx	mm ³	Autograft	3 Mt	T 1 * 3 m	14440.00	14410.00	1679.00
			6 Mt	T 1 * 6 m	14230.00	14450.00	1345.00
			12 Mt	T 1 * 12 m	14290.00	15140.00	3242.00
		PTH 1	3 Mt	T 2 * 3 m	13970.00	13840.00	1138.00
			6 Mt	T 2 * 6 m	13210.00	12970.00	2397.00
			12 Mt	T 2 * 12 m	8488.00	8075.00	2873.00
		PTH 2	3 Mt	T 3 * 3 m	15000.00	15320.00	1668.00
			6 Mt	T 3 * 6 m	14800.00	14620.00	2318.00
			12 Mt	T 3 * 12 m	12890.00	13550.00	4501.00

Fortsetzung Tab. 8.1.3.1: Mittelwert, Median und Standardabweichung der berechneten Indizes der einzelnen Behandlungs- und Überlebenszeitgruppen (Daten wurden mit freundlicher Genehmigung von Martin Stauber übernommen)

Index	Einheit	Behandlungs- gruppe	Überlebens- zeitraum	Bezeichnung	Mittelwert	Median	Stabw
BV cylgp	mm ³	Autograft	3 Mt	T 1 * 3 m	1529.00	1397.00	423.90
			6 Mt	T 1 * 6 m	1213.00	1103.00	314.50
			12 Mt	T 1 * 12 m	1250.00	1298.00	202.70
		PTH 1	3 Mt	T 2 * 3 m	746.70	426.30	637.30
			6 Mt	T 2 * 6 m	1049.00	846.80	669.50
			12 Mt	T 2 * 12 m	1518.00	1667.00	398.70
		PTH 2	3 Mt	T 3 * 3 m	676.90	475.50	626.70
			6 Mt	T 3 * 6 m	1495.00	1465.00	1010.00
			12 Mt	T 3 * 12 m	1775.00	1821.00	240.40
BV gobjt	mm ³	Autograft	3 Mt	T 1 * 3 m	608.50	566.10	162.00
			6 Mt	T 1 * 6 m	640.40	634.30	67.56
			12 Mt	T 1 * 12 m	859.70	874.20	210.30
		PTH 1	3 Mt	T 2 * 3 m	359.80	257.80	249.10
			6 Mt	T 2 * 6 m	349.20	258.00	246.40
			12 Mt	T 2 * 12 m	629.90	673.10	246.60
		PTH 2	3 Mt	T 3 * 3 m	332.70	289.00	220.30
			6 Mt	T 3 * 6 m	723.80	756.40	401.80
			12 Mt	T 3 * 12 m	756.40	773.00	218.40
BV outco	mm ³	Autograft	3 Mt	T 1 * 3 m	10270.00	10120.00	1116.00
			6 Mt	T 1 * 6 m	9060.00	8977.00	1005.00
			12 Mt	T 1 * 12 m	9782.00	10130.00	1875.00
		PTH 1	3 Mt	T 2 * 3 m	9400.00	9176.00	600.40
			6 Mt	T 2 * 6 m	8918.00	8707.00	1681.00
			12 Mt	T 2 * 12 m	6688.00	6417.00	1390.00
		PTH 2	3 Mt	T 3 * 3 m	10290.00	9911.00	1600.00
			6 Mt	T 3 * 6 m	9957.00	9948.00	1697.00
			12 Mt	T 3 * 12 m	9506.00	10060.00	2035.00
BV shaft	mm ³	Autograft	3 Mt	T 1 * 3 m	9577.00	9523.00	961.70
			6 Mt	T 1 * 6 m	8702.00	8721.00	1068.00
			12 Mt	T 1 * 12 m	9142.00	8961.00	1754.00
		PTH 1	3 Mt	T 2 * 3 m	8907.00	8652.00	630.70
			6 Mt	T 2 * 6 m	8256.00	8285.00	1343.00
			12 Mt	T 2 * 12 m	6206.00	6090.00	922.10
		PTH 2	3 Mt	T 3 * 3 m	9662.00	9359.00	1359.00
			6 Mt	T 3 * 6 m	9194.00	9248.00	1244.00
			12 Mt	T 3 * 12 m	8799.00	9041.00	1504.00
BV outcx	mm ³	Autograft	3 Mt	T 1 * 3 m	10270.00	10120.00	1116.00
			6 Mt	T 1 * 6 m	9060.00	8977.00	1005.00
			12 Mt	T 1 * 12 m	9782.00	10130.00	1875.00
		PTH 1	3 Mt	T 2 * 3 m	9400.00	9176.00	600.40
			6 Mt	T 2 * 6 m	8918.00	8707.00	1681.00
			12 Mt	T 2 * 12 m	6688.00	6417.00	1390.00
		PTH 2	3 Mt	T 3 * 3 m	10290.00	9911.00	1600.00
			6 Mt	T 3 * 6 m	9957.00	9948.00	1697.00
			12 Mt	T 3 * 12 m	9506.00	10060.00	2035.00

Fortsetzung Tab. 8.1.3.1: Mittelwert, Median und Standardabweichung der berechneten Indizes der einzelnen Behandlungs- und Überlebenszeitgruppen (Daten wurden mit freundlicher Genehmigung von Martin Stauber übernommen)

Index	Einheit	Behandlungsgruppe	Überlebenszeitraum	Bezeichnung	Mittelwert	Median	Stabw
BV/TV outcx	%	Autograft	3 Mt	T 1 * 3 m	71.19	71.77	1.93
			6 Mt	T 1 * 6 m	63.73	64.68	4.63
			12 Mt	T 1 * 12 m	70.20	67.77	13.50
		PTH 1	3 Mt	T 2 * 3 m	67.44	67.13	2.97
			6 Mt	T 2 * 6 m	67.49	67.29	4.30
			12 Mt	T 2 * 12 m	82.02	85.54	13.03
		PTH 2	3 Mt	T 3 * 3 m	68.41	68.05	4.46
			6 Mt	T 3 * 6 m	67.35	66.98	6.08
			12 Mt	T 3 * 12 m	77.46	74.43	13.07
BV/TV gobjt	%	Autograft	3 Mt	T 1 * 3 m	57.57	54.49	11.34
			6 Mt	T 1 * 6 m	68.39	66.12	10.36
			12 Mt	T 1 * 12 m	88.29	89.00	6.65
		PTH 1	3 Mt	T 2 * 3 m	35.32	27.55	22.14
			6 Mt	T 2 * 6 m	34.86	27.33	20.86
			12 Mt	T 2 * 12 m	79.09	88.31	23.38
		PTH 2	3 Mt	T 3 * 3 m	29.51	26.96	17.09
			6 Mt	T 3 * 6 m	68.86	84.45	29.58
			12 Mt	T 3 * 12 m	85.35	85.00	4.40
BV cylgp/ TV gobjt	%	Autograft	3 Mt	T 1 * 3 m	145.20	132.10	34.27
			6 Mt	T 1 * 6 m	127.80	118.00	26.39
			12 Mt	T 1 * 12 m	131.90	130.10	25.04
		PTH 1	3 Mt	T 2 * 3 m	72.50	44.92	57.37
			6 Mt	T 2 * 6 m	106.10	88.38	59.65
			12 Mt	T 2 * 12 m	195.10	201.30	19.99
		PTH 2	3 Mt	T 3 * 3 m	58.79	44.17	48.10
			6 Mt	T 3 * 6 m	138.60	158.50	67.49
			12 Mt	T 3 * 12 m	213.70	193.30	67.84
BV cylgp/ TV outcx	%	Autograft	3 Mt	T 1 * 3 m	10.51	9.98	2.27
			6 Mt	T 1 * 6 m	8.51	7.80	1.94
			12 Mt	T 1 * 12 m	9.28	8.33	3.40
		PTH 1	3 Mt	T 2 * 3 m	5.11	3.16	4.00
			6 Mt	T 2 * 6 m	7.63	6.78	4.28
			12 Mt	T 2 * 12 m	19.14	18.56	6.51
		PTH 2	3 Mt	T 3 * 3 m	4.23	3.09	3.55
			6 Mt	T 3 * 6 m	9.65	8.93	5.62
			12 Mt	T 3 * 12 m	15.22	13.09	5.39

8.2 Abbildungen

8.2.1 Fotografien Operation

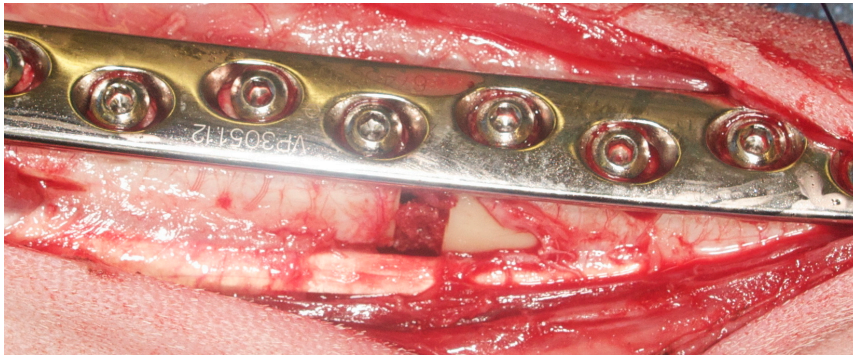


Abb. 8.2.1.1:
16.06, Autograft, postoperativ

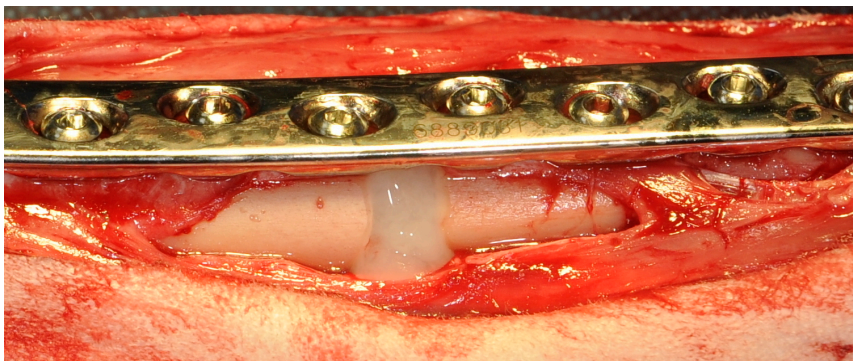


Abb. 8.2.1.2:
16.43, PTH1, postoperativ

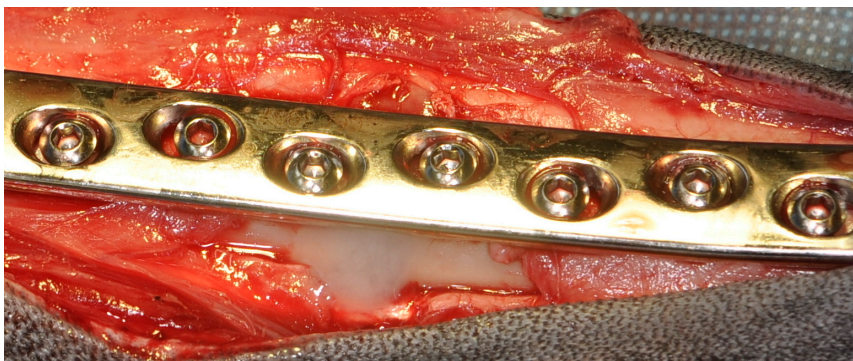


Abb. 8.2.1.3:
16.36, PTH2, postoperativ

8.2.2 Röntgenbilder

8.2.2.1 Versuchstiere mit zwölf Monaten Überlebenszeitraum

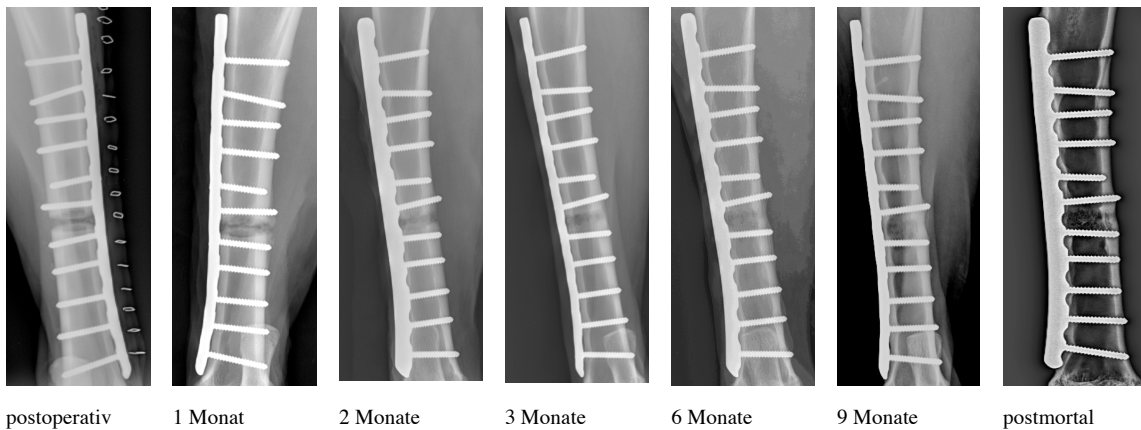


Abb. 8.2.2.1.1: Heilungsverlauf 16.04, Autograft

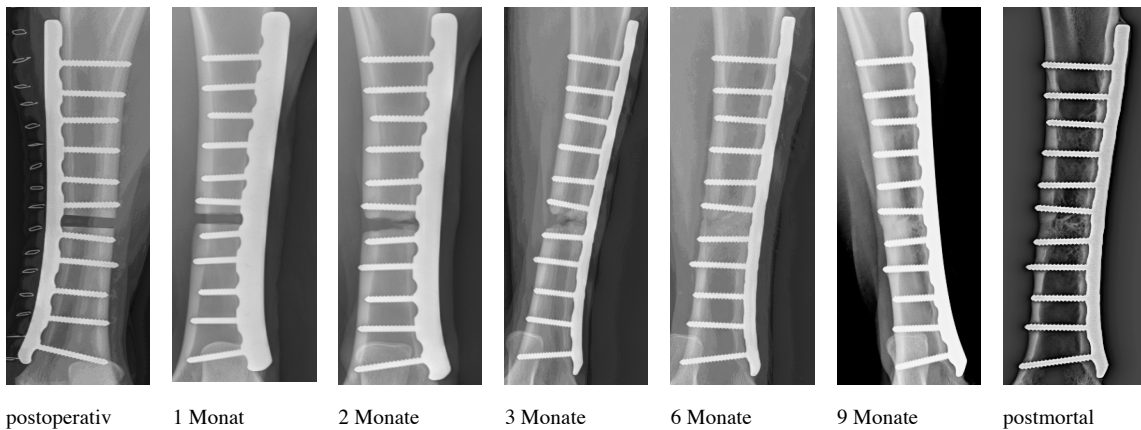


Abb. 8.2.2.1.2: Heilungsverlauf 16.09, PTH1

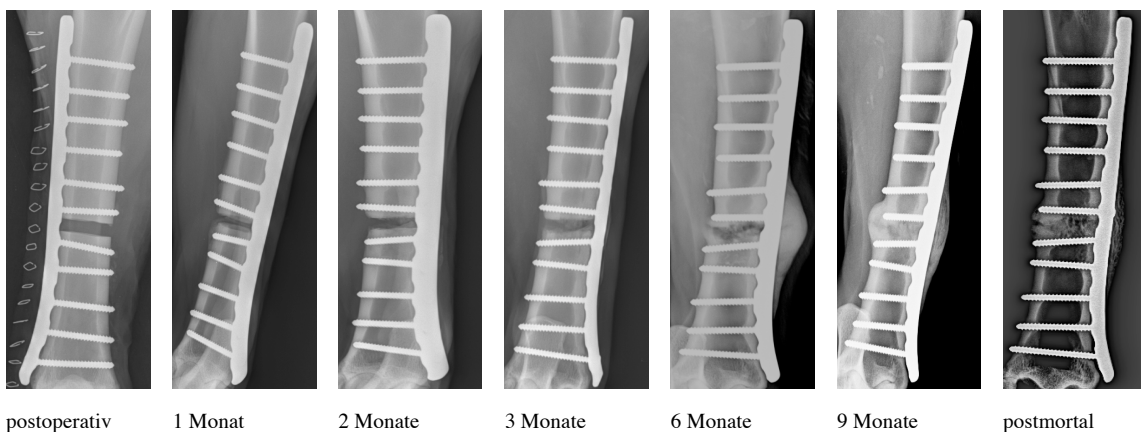


Abb. 8.2.2.1.3: Heilungsverlauf 16.14, PTH2

8.2.2.2 Versuchstiere mit sechs Monaten Überlebenszeitraum

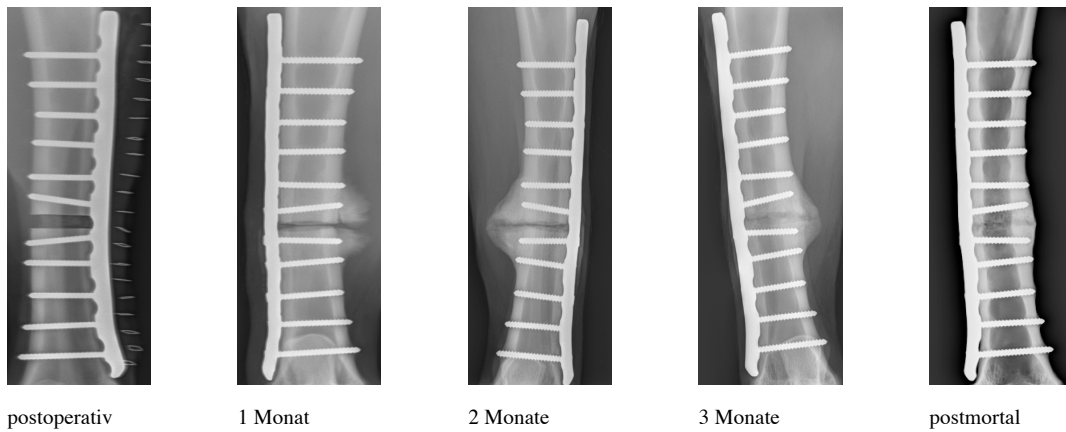


Abb. 8.2.2.2.1: Heilungsverlauf 16.22, Autograft

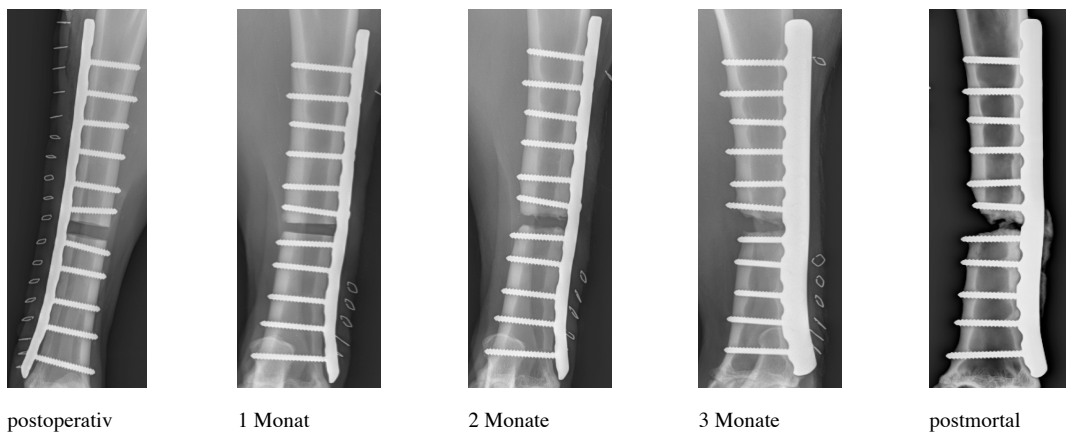


Abb. 8.2.2.2.2: Heilungsverlauf 16.25, PTH1

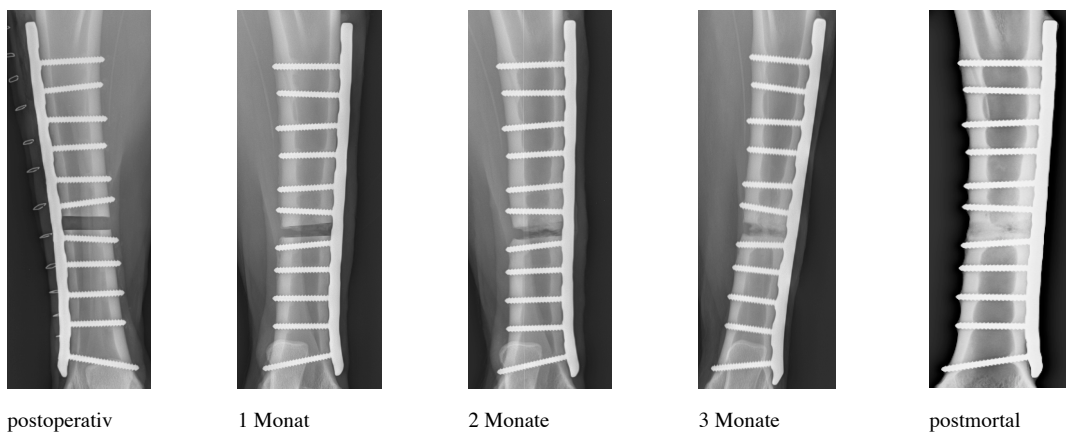
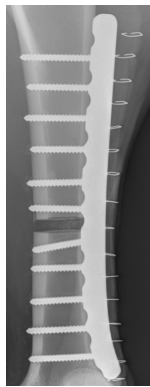
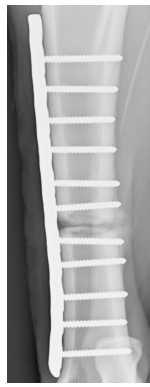


Abb. 8.2.2.2.3: Heilungsverlauf 16.33, PTH2

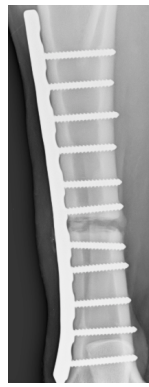
8.2.2.3 Versuchstiere mit drei Monaten Überlebenszeitraum



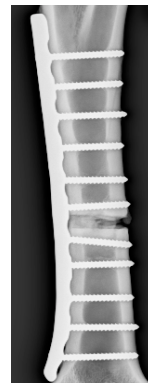
postoperativ



1 Monat

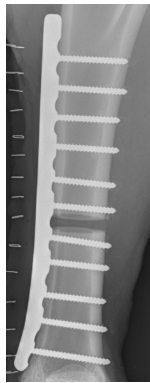


2 Monate

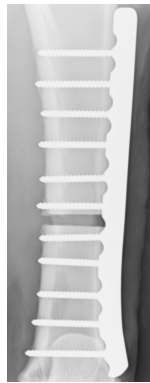


postmortal

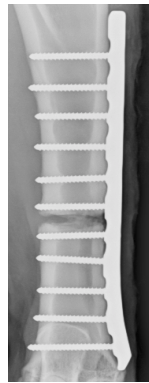
Abb. 8.2.2.3.1: Heilungsverlauf 16.41, Autograft



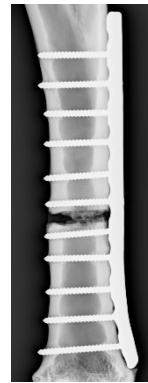
postoperativ



1 Monat

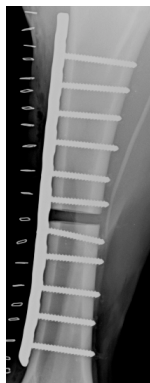


2 Monate

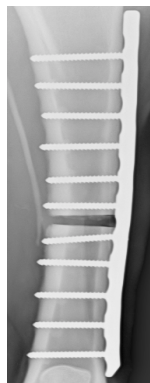


postmortal

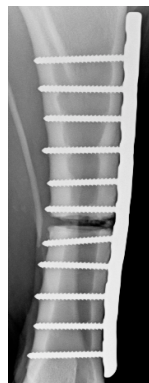
Abb. 8.2.2.3.2: Heilungsverlauf 16.44, PTH1



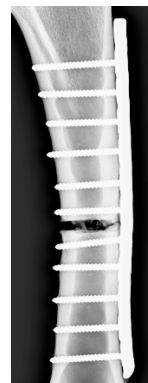
postoperativ



1 Monat



2 Monate



postmortal

Abb. 8.2.2.3.3: Heilungsverlauf 16.50, PTH2

8.2.3 Fotografien Schlachtung und Biomechanik

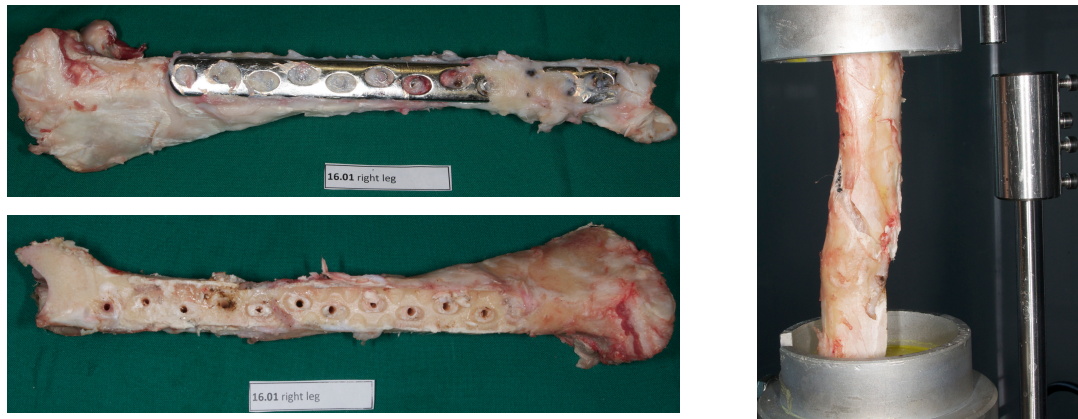


Abb. 8.2.3.1: 16.01, Autograft
Postmortal mit Platte (links oben) u. ohne Platte (links unten) u. nach dem Torsionstest (rechts)

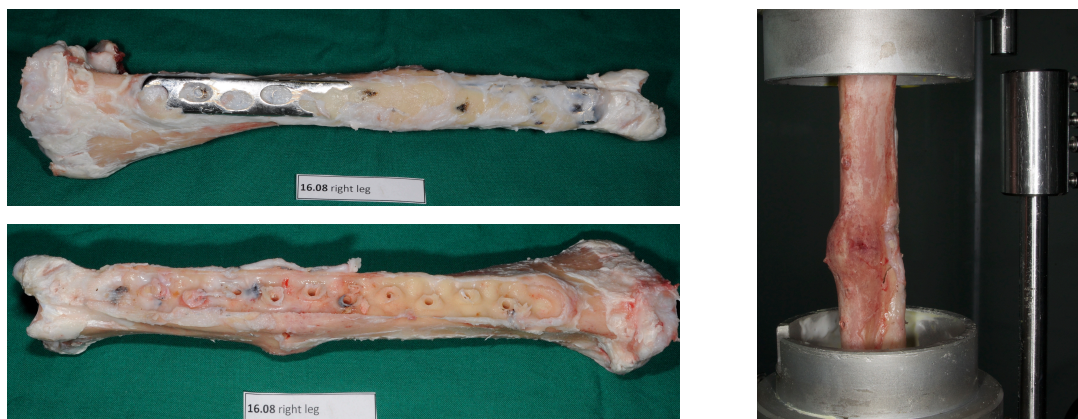


Abb. 8.2.3.2: 16.08, PTH1
Postmortal mit Platte (links oben) u. ohne Platte (links unten) u. nach dem Torsionstest (rechts)



Abb. 8.2.3.3: 16.14, PTH2
Postmortal mit Platte (links oben) u. ohne Platte (links unten) u. nach dem Torsionstest (rechts)

8.2.4 Mikro Computer Tomographie

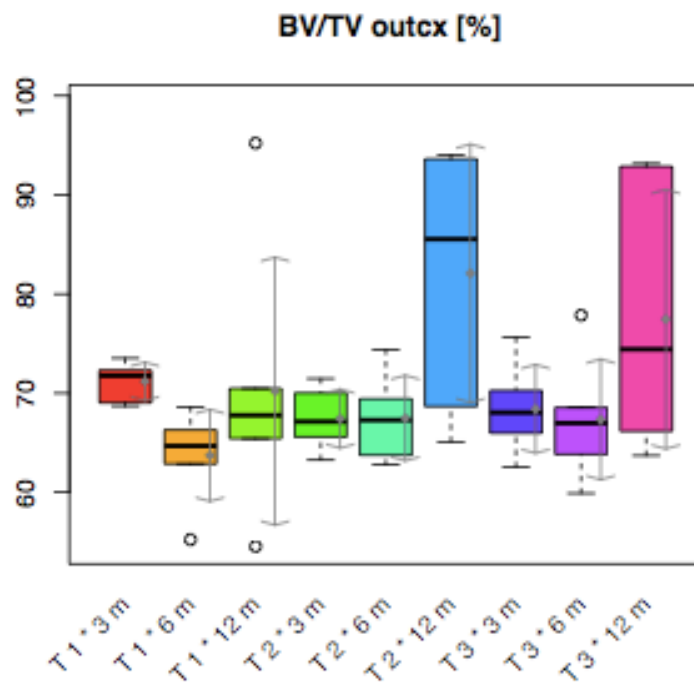


Abb. 8.2.4.1: Deskriptive Statistik für BV/TV_{outcx} [%]

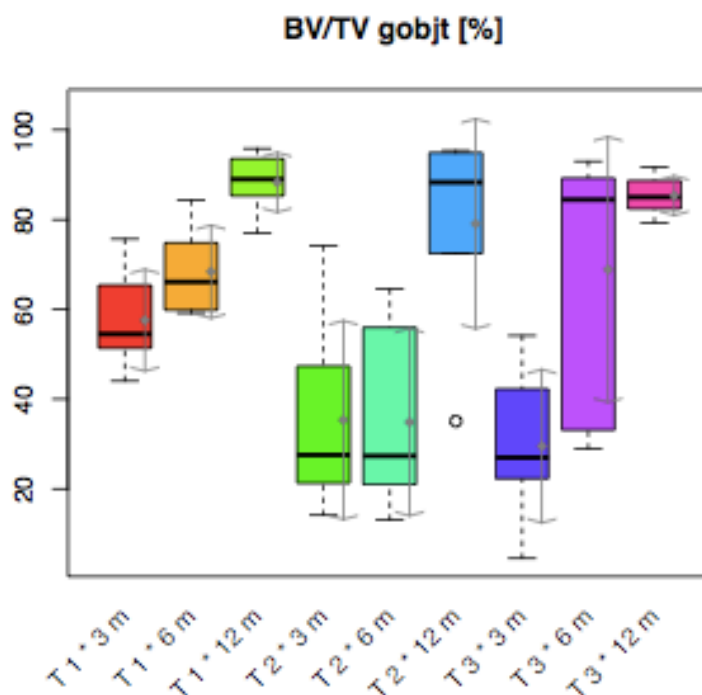


Abb. 8.2.4.2: Deskriptive Statistik für BV/TV_{gobjt} [%]

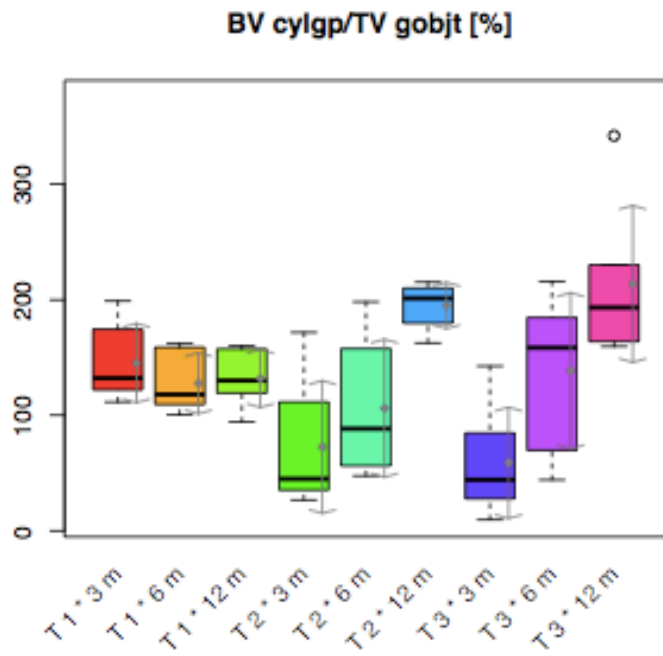


Abb. 8.2.4.3: Deskriptive Statistik für BV_{cylgp}/TV_{gobjt} [%]

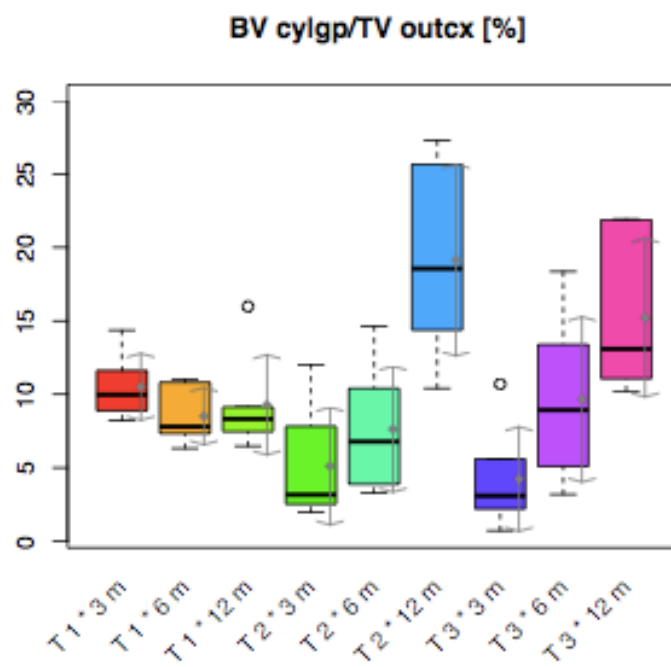


Abb. 8.2.4.4: Deskriptive Statistik für BV_{cylgp}/TV_{outcx} [%]

(Abbildungen wurden mit freundlicher Genehmigung von Martin Stauber übernommen)

Danksagung

Zuerst möchte ich mich bei Frau Prof. Brigitte von Rechenberg bedanken, die mir das Thema zur Verfügung gestellt hat. Sie war eine aussergewöhnliche Chefin, die mir immer mit Rat und Tat zur Seite stand und hatte darüber hinaus ein offenes Ohr in jeder Angelegenheit. Dafür vielen Dank!

Bei Herrn Prof. Anton Fürst, Direktor des Departements für Pferde der Vetsuisse-Fakultät Zürich, möchte ich mich für die Unterstützung der MSRU bedanken.

Herrn Prof. Stephen J. Ferguson, Leiter des Instituts für Biomechanik an der ETH Zürich, möchte ich für die Übernahme des Korreferats danken. Seinem Team, allen voran Patrick Käppeli, möchte ich für die Durchführung der biomechanischen Tests danken.

Ein weiteres Dankeschön geht an meine Projektpartner Marina Capone und Ph.D. Jason Schense. Vor allem Marina habe ich für die gute Zusammenarbeit und den reibungslosen Ablauf der OP-Tage zu danken.

Bei Herrn Prof. Jörg Auer möchte ich mich für die chirurgische Unterstützung und die gute Laune im OP bedanken.

Dem Team der Rinderklinik, allen voran Michael Bless und Jasmin Nauer, sowie den Fahrern des Tierspitals danke ich für die Hilfe an den OP-Tagen.

Vielen Dank auch an Paul Müller, der mit seiner Flexibilität und seiner guten Laune die Schlachttage erträglich gemacht hat. Danke an Urs Müller und Katrin Süss für die Bereitstellung der Säge und vieler anderer hilfreicher Instrumente!

Ein Dankeschön geht auch an das Anästhesie-Team, das alle meine Schafe sicher durch die Narkose geführt hat und immer eine helfende Hand hatte: Dr. Svende Pfundstein, Dr. Michèle Sidler und Dr. Peter Kronen.

Vielen Dank an Käthi Kämpf für die Mithilfe bei allen praktischen Tätigkeiten und der Verarbeitung meiner Proben.

Rainer Egle danke ich für Hilfe bei der Anfertigung des Booklets.

Bei Familie Knüsel und unserer Tierpflegerin Silvana möchte ich mich für die Betreuung unsere Schafe bedanken.

Frau Dr. Karina Klein danke ich für die Durchführung der chirurgischen Eingriffe, die Mithilfe bei meinem Projekt und die tolle Betreuung meiner Dissertation. Danke für deine Hilfe!

Meinen Doktorandenkollegen und dem weiteren Team der MSRU danke ich herzlich für die geduldige Mithilfe und tolle Unterstützung bei den Röntgenuntersuchen und an den vielen OP-Tagen! Danke für die schöne MSRU-Zeit: Dr. Lena Müller mit Paco, Dr. Svende Pfundstein, Julia Freudenhammer, Dr. Ramon Bucher, Ansgar Solecki, Valentin Reichle, Dr. Anika Drechsler, Dr. Mario Benn, Dr. Agnieszka Karol, Dr. Anke Schulze Grotthoff, Dr. Oliver Gehrig, Dr. Francis Pusch, Dr. Nathalie Fouché, Dr. Henning Richter, Dr. Henriette Lapczyna, Dr. Karina Klein, Käthi Kämpf, Irem Sancak und Dr. Michèle Sidler.

Ein besonderes Dankeschön geht an Lena und Svende. Danke für eure Unterstützung in jeder Hinsicht, die vielen lustigen und schönen Stunden, die wir gemeinsam (auch ausserhalb der MSRU) verbracht haben. Schön, dass wir uns getroffen haben!

Ich möchte mich bei meiner besten Freundin Anna-Lena Fischer bedanken, die immer und überall für mich da war. Danke für deine Freundschaft!

Vielen Dank an meine Eltern Martin und Susanne Gegner, meine Geschwister Cathrin und Max Gegner für die Unterstützung und den Rückhalt in allen Lebenslagen!

Lebenslauf

Vorname Name	Lea Gegner
Geburtsdatum	11. Juni 1985
Geburtsort	Mühlacker, Deutschland
Nationalität	Deutsch
09/1991 – 07/1995	Grundschule in Mühlacker und Enzberg, Deutschland
09/1995 – 07/2004	Theodor-Heuss-Gymnasium Mühlacker, Deutschland
26/06/2004	Abitur, allgemeine Hochschulreife, Theodor-Heuss-Gymnasium, Mühlacker, Deutschland
10/2005 – 07/2011	Studium der Veterinärmedizin, Veterinärmedizinische Universität Wien, Österreich
05/07/2011	Diplom-Tierärztin, Universität Wien, Österreich
08/2011 – 03/2016	Anfertigung der Dissertation unter Leitung von Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg in der Musculoskeletal Research Unit (MSRU) am Departement für Pferde der Vetsuisse Fakultät der Universität Zürich, Direktor Prof. Dr. med. vet. Anton Fürst
08/2011 – 04/2013	Mitarbeit an der Musculoskeletal Research Unit (MSRU) am Departement für Pferde der Vetsuisse Fakultät der Universität Zürich
04/2013 – 04/2016	Angestellte Tierärztin in der Gross- und Kleintierpraxis Dr. med. vet. Andreas Peter in Winterthur
Seit 05/2016	Angestellte Tierärztin in der Kleintierklinik Oberstrass in Zürich unter Leitung von Dr. med. vet. Lutz Schröter FVH
